



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Determinación del efecto antidiarreico en ratones albinos del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F “ñuchco hembra” y evaluación de citotoxicidad en *Artemia salina*

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Saul MALPARTIDA CÓNDOR

ASESORES

Francisco Javier María RAMÍREZ CRUZ

Eva RAMÍREZ LLICA

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Malpartida S. Determinación del efecto antidiarreico en ratones albinos del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F “ñuchco hembra” y evaluación de citotoxicidad en *Artemia salina* [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2018.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

**Determinación del efecto antidiarreico en ratones albinos del extracto etanólico de
hojas de *Solanum radicans* L.F "ñuchco hembra" y evaluación de citotoxicidad en
*Artemia salina***

Que presenta el Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

SAUL MALPARTIDA CÓNDOR

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

18 SOBRESALIENTE

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 13 de diciembre de 2018.


Dr. Pablo Enrique Bonilla Rivera
Presidente


Mg. Luis-Alberto Rojas Ríos
Miembro


Mg. Raúl Máximo Soria López
Miembro


Q.F. Fritz Fedor Choquesillo Peña
Miembro

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

DEDICATORIA

Agradezco a Dios por permitirme realizar esta tesis, brindándome la fortaleza y perseverancia para poder concretar uno de mis sueños.

A mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, por darme la vida y educarme en la verdad y el amor, porque sentaron las bases de mi desarrollo personal y profesional.

A mis hermanos Jhosmel, Jhasmín y Xiomara porque llenan mi vida de amor y felicidad a cada segundo y por su gran apoyo motivacional durante el tiempo en que cursaba mi carrera.

A Ernestina e hijos por brindarme su inmensa comprensión y apoyo incondicional que me dieron para realizar todo lo que me propuse.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y a la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Alma Mater de nuestra profesión por formarnos y orientarnos a ser buenos profesionales de la salud.

A mi asesor Mg. Francisco Ramírez Cruz, por su orientación, generosidad y la oportunidad de realizar esta tesis y compartir su amplia experiencia y conocimientos en un marco de confianza y amistad para culminar el presente trabajo.

A mi Co-asesora QF. Eva Ramos Llica, por su motivación, confianza y contribución durante el desarrollo de toda la investigación.

A la Mg. Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa, docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica por su colaboración y sus aportes de conocimiento para el presente trabajo.

A mi gran amigo y hermano Jhery Limaymanta Gonzales por todo su apoyo incondicional y que ha hecho posible culminar este trabajo de investigación.

Al Presidente y a los Miembros del Jurado Examinador y Calificador, por sus valiosas recomendaciones y tiempo brindado durante la realización de esta tesis.

RESUMEN

En el presente trabajo se determinó el efecto antidiarreico del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F “ñuchco hembra” en ratones machos albinos por vía oral, donde se utilizó el modelo de inducción de diarrea con aceite ricino (10 mL/Kg) divididos en los siguientes grupos: suero fisiológico 10 mL/Kg, fármaco estándar Loperamida 2 mg/kg y extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F a las concentraciones de 400, 600 y 900 mg/kg. Se administró a cada animal 0,2 mL de suspensión de carbón activado (10%) en goma tragacanto (1%) como marcador del desplazamiento en el intestino; y finalmente fueron eutanizados por dislocamiento cervical. La cavidad abdominal fue abierta para determinar la longitud total del intestino delgado de cada animal (píloro hasta la válvula ileocecal), así como el desplazamiento del carbón activado, donde se calculó el porcentaje de disminución del movimiento peristáltico de la Loperamida y *Solanum radicans* L.F. Los resultados muestran un mayor efecto antidiarreico a dosis de 400 mg/Kg ($p < 0,05$) con 69,66% de disminución del movimiento peristáltico, comparado con el fármaco estándar que presentó 63,42%. Se realizó tamizaje fitoquímico preliminar del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F detectándose en mayor cantidad la presencia de alcaloides, flavonoides, azúcares, esteroides; además se realizó la cromatografía en capa fina (CCF) del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F comparándolos con estándares de atropina, rutina y quercetina.

Se evaluó la citotoxicidad frente a *Artemia salina*, del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F para lo cual se preparó solución madre de 1000 ug/mL (10 mg del extracto seco en 10 mL de agua de mar artificial) y a partir de ahí se emplearon concentraciones de 5, 10, 15, 20, 25 y 30 ug/mL, donde se obtuvo el valor de la concentración letal media de 12,83 ug/mL.

Se concluye que el extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F tiene efecto antidiarreico y una actividad citotóxica en los modelos experimentales trabajados.

Palabras clave: *Solanum radicans* L.F, extracto etanólico, alcaloides, efecto antidiarreico, *Artemia salina*, citotoxicidad.

SUMMARY

In the present work, the antidiarrheal effect of the ethanolic extract of leaves of *Solanum radicans* L.F "ñuchco hembra" in male albino mice was determined orally, where the model of induction of diarrhea with castor oil (10 mL/Kg) divided into the following was used groups: serum 10 mL/Kg, standard drug Loperamide 2 mg/kg and ethanolic extract of leaves of *Solanum radicans* L.F at concentrations of 400, 600 and 900 mg/kg. Each animal was administered 0,2 mL of activated charcoal suspension (10%) in tragacanth gum (1%) as a marker of displacement in the intestine; and finally they were euthanized by cervical dislocation. The abdominal cavity was opened to determine the total length of the small intestine of each animal (pylorus to the ileocecal valve), as well as the advance of activated charcoal, where the percentage of inhibition of Loperamide and *Solanum radicans* L.F was calculated. The results show a greater antidiarrheal effect at a dose of 400 mg/kg ($p < 0,05$) with 69,66% decrease in peristaltic movement, compared with the standard drug that presented 63,42%. A preliminary phytochemical screening of the ethanol extract of leaves of *Solanum radicans* L.F was carried out, detecting in greater quantity the presence of alkaloids, flavonoids, sugars, and steroids, mainly; in addition, thin layer chromatography of the ethanolic extract of leaves of *Solanum radicans* L.F was carried out, comparing them with standards of atropine, rutin and quercetin.

The cytotoxicity was evaluated against *Artemia salina*, from the ethanolic leaf extract of *Solanum radicans* L.F for which 1000 µg/mL stock solution (10 mg of the dry extract in 10 mL of artificial seawater) was prepared and from there concentrations of 5, 10, 15, 20, 25 and 30 µg/mL were used, where the mean lethal concentration value of 12,83 µg/mL was obtained.

It is concluded that the ethanolic extract of leaves of *Solanum radicans* L.F has an antidiarrheal effect and a cytotoxic activity in the experimental models studied.

Keywords: *Solanum radicans* L.F, ethanolic extract, alkaloids, antidiarrheal effect, *Artemia salina*, cytotoxicity.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. GENERALIDADES	3
2.1 Antecedentes referentes a la especie	3
2.1.1 Clasificación sistemática	3
2.1.2 Descripción botánica	4
2.1.3 Distribución geográfica	5
2.1.4 Propiedades medicinales	6
2.2 Aspecto químico	6
2.2.1 Composición química del <i>Solanum radicans</i> L.F	6
2.2.2 Alcaloides	6
2.2.3 Flavonoides	8
2.3 Actividad biológica	11
2.3.1 Intestino delgado y motilidad	11
2.3.2 Actividad antidiarreica	12
2.3.3 Actividad citotóxica	23
III. PARTE EXPERIMENTAL	27
3.1 Materiales, equipos y reactivos	27
3.1.1 Material biológico	27
3.1.2 Equipos de Laboratorio	27
3.1.3 Material de Laboratorio	27
3.1.4 Reactivos Químicos y Fármacos	28
3.2 Entidades donde se desarrolló la investigación	29
3.3 Metodología	29
3.3.1 Identificación botánica y taxonómica	29
3.3.2 Recolección del material	29
3.3.3 Preparación del extracto etanólico de <i>Solanum radicans</i> L.F	30
3.3.4 Estudio farmacognóstico	30
3.3.4.1 Prueba de solubilidad	30
3.3.4.2 Tamizaje fitoquímico	30

3.3.4.3 Análisis cromatográfico	30
3.3.5 Estudio farmacológico	31
3.3.5.1 Determinación del efecto antidiarreico del extracto etanólico de hojas de <i>Solanum radicans</i> L.F	31
3.3.5.2 Análisis estadístico	32
3.3.6 Evaluación de la citotoxicidad en <i>Artemia salina</i>	32
3.3.6.1 Análisis estadístico	33
IV. RESULTADOS	34
V. DISCUSIÓN	40
VI. CONCLUSIONES	44
VII. RECOMENDACIONES	45
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
VIII. ANEXOS	56

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han acompañado desde la antigüedad al hombre e históricamente han estado ligadas a la forma de curar y prevenir enfermedades; y es así, que forman parte de lo que ahora se conoce como medicina tradicional. En la actualidad se hace cada vez más frecuente el uso de especies vegetales como solución a diferentes problemas de salud, sin que estos usos hayan sido confirmados científicamente; por ello, es innegable la necesidad de profundizar los estudios e investigaciones de un sinnúmero de especies nativas presentes en nuestro país. El Perú es un país poseedor de una gran biodiversidad favorecida por los diferentes ecosistemas en las diferentes regiones; y la población consta de amplio conocimiento ancestral en el uso tradicional de las plantas medicinales. Esta realidad nos impulsa a investigar sobre aquellos metabolitos secundarios responsables de las propiedades curativas de estas especies, para lo cual hacemos uso de disciplinas como la Fitoquímica, la Farmacología y la Toxicología, de esta manera podemos determinar los tipos de metabolitos, rutas metabólicas de biosíntesis, mecanismos de regulación y la toxicidad. Obtenidos estos conocimientos queda abierta la posibilidad de industrialización de muchos de nuestros recursos naturales y abre paso en el mundo contemporáneo para la medicina alternativa¹. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoce la importancia del rol que desempeña el uso de las plantas medicinales en la “Atención Primaria de la Salud”, recomienda y respalda su integración en los sistemas nacionales de salud, quienes estiman que casi el 80% de todos los habitantes de la tierra los usan para resolver sus principales problemas de salud². Los metabolitos secundarios de las plantas medicinales son responsables de algunas “propiedades curativas” que en la medicina tradicional se les atribuye, y constituyen un gran potencial de reserva inexplorada de gran utilidad al hombre. La medicina etnobotánica popular ha utilizado tradicionalmente extractos vegetales para el tratamiento de alteraciones gastrointestinales³. Los correspondientes estudios fitoquímicos revelaron la presencia de alcaloides, flavonoides y demás compuestos con actividad antidiarreica y antiespasmódica^{4,5}; lo que indicaría que este efecto puede ser resultado de una acción conjunta entre

varios metabolitos que puede contener una misma planta. En vista de que las enfermedades diarreicas siguen siendo uno de los principales problemas de salud del Perú y el mundo^{6,7}, la siguiente investigación se realizó para determinar el efecto antidiarreico y evaluar la citotoxicidad del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F “ñuchco hembra”.

Objetivo general

Determinar el efecto antidiarreico del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F “ñuchco hembra” en ratones albinos y evaluar la citotoxicidad en nauplios de *Artemia salina*.

Objetivos específicos

1. Identificar los tipos de metabolitos secundarios mediante el tamizaje fitoquímico y por cromatografía en capa fina
2. Determinar el efecto antidiarreico en ratones albinos del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F
3. Evaluar la citotoxicidad del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F en nauplios de *Artemia salina*

Hipótesis

El extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F, posee efecto antidiarreico en ratones albinos y presenta citotoxicidad sobre nauplios de *Artemia salina*.

II. GENERALIDADES

2.1 Antecedentes

2.1.1 Clasificación sistemática

La clasificación sistemática de la especie vegetal se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM), según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

REINO: PLANTAE

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: SCROPHULARIALES

FAMILIA: SOLANACEAE

GENERO: *Solanum*

ESPECIE: *Solanum radicans* L.F.,

Nombre científico: *Solanum radicans* L.F

Nombre vulgar: “ñuchco hembra”

Según constancia emitida por el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Anexo 1).



Figura 1. Planta adulta de *Solanum radicans* L.F (Fuente: propia)

2.1.2 Descripción botánica

La familia *Solanaceae* está compuesta por plantas herbáceas, arbustos o pequeños árboles^{8,9}; hojas alternas, simples y sin estípulas, la estructura de los vástagos es difícil de interpretar debido a la existencia de fenómenos de conrescencia y desplazamiento de tallos y hojas. En las ramas floridas se observa con frecuencia la unión de las hojas con sus ramas axilares. Las estomas de tipo anisocítico, pueden encontrarse en ambas caras de la hoja. Se observa pelos tectores y glandulosos, mostrando estos últimos una variedad en el pericelo como en la glándula. Es común la presencia de cristales arenáceos, cristales aislados y drusas. Generalmente 5 estambres; flores de hasta 1.5 cm de diámetro, bisexuales y rara vez zigomorfas, dorsiventrales y haces bicolaterales, que se agrupan frecuentemente en cincinnos y los primordios seminales se hallan sobre gruesas placentas. La fórmula floral suele ser $K(5) [C(5) A5] G(2)$, con flores solitarias o en inflorescencias cimosas. El ovario es típicamente bilocular. Perianto y androceo (inserto a la corola y ovario) pentámeros y actinomorfos, gineceo bicarpelar y oblicuo con respecto al plano medial de la flor, cada carpelo con 1 rudimento seminal de placentación marginal y, por lo tanto, disepimental. Todos los miembros de la familia poseen floema intraxilemático (intraleñoso), acompañados de fibras esclerenquimatosas. Semillas con tejido nutritivo o sin él. Fruto en baya o cápsula¹⁰.

La familia está constituida por aproximadamente 90 géneros y más de 2000 especies, son de regiones tropicales y templadas. Es cosmopolita, teniendo como uno de los principales lugares a América del Sur. Ocupa el sexto lugar por su diversidad en especies endémicas. Entre sus géneros están incluidos el *Solanum* con 1700 especies¹¹. En Perú, el *Solanum* es una de las más ricas en especies en la flora peruana, siendo reconocida con alrededor de 42 géneros y 600 especies⁸.

La planta de *Solanum radicans* L.F se caracteriza por ser una hierba perenne, anual y silvestre que crece de 0,5 m hasta 1 m de alto, popularmente llamado ñuchco hembra, cusmayllo, chilli-ñuchku, uvilla y ñusco¹².

Posee una raíz axonomorfa con ramificación primaria y secundaria; tallo semirrastrero, radicante, herbáceo con ramificaciones, espinas ausentes; hoja simple de filotaxis alterna, margen pinnatipartida, nervadura pinnada, inserción peciolada, ápice de la hoja agudo, base atenuada, borde del limbo partida, estructura histológica bifacial, tipo de estoma anisocítico; inflorescencia cimosa, flores pentámeras con cáliz de 5 sépalos, gamosépalo, corola de simetría actinomorfa, dialipétalo, color blanco con franjas moradas; gineceo hipógino, unicarpelar; androceo con estambres soldados (poliadelphos) y poliandros. Los frutos son bayas de hasta 1 cm de diámetro, simple, carnosos, color verde-amarillo, envueltos con sépalos. Semillas típica dicotiledónea.

2.1.3 Distribución geográfica

Solanum radicans L.F crece como invasora en los terrenos de cultivo, así como en lugares de sembradíos, escombros y junto a los muros; su propagación se realiza mediante semilla y su crecimiento está supeditado generalmente a la época de lluvias¹³. Es nativo de América del Sur, distribuido en Perú, Ecuador, Chile, Bolivia, Argentina y naturalizado en Australia^{14,15}.

En el territorio peruano crece en la Costa, Sierra y Selva, hasta los 4000 msnm y en lugares húmedos¹⁶; ampliamente distribuida en distintos departamentos: Junín (Huancayo, Tarma), Amazonas (Chachapoyas), Arequipa (Yura, Mollendo, Chala), Ayacucho (Pomabamba, Raimondi), Cajamarca (Cutervo), Cuzco (Sicuani, Urubamba), Huánuco (Raimondi), Lima (Valle del Chillón), y Piura (Huancabamba). Tiene tolerancia a la sequía, la salinidad, la toxicidad de boro y a la variación de temperatura¹⁷; no se encuentra en zonas muy frías del hemisferio norte, ni en los desiertos de condiciones extremas¹⁸.

2.1.4 Propiedades medicinales

Solanum radicans L.F “ñuchco hembra” es una planta usada con fines terapéuticos en la medicina tradicional peruana, en el tratamiento de algunas enfermedades. Ciertas partes de la planta tienen actividades, como el fruto que se usa en emplasto como antipirético, la semilla triturada como laxante¹⁶, las hojas frescas en cataplasma para tratar la erisipela¹⁹.

La infusión de sus hojas se usa como analgésico, antiespasmódico, sedante¹³ y en padecimientos gastrointestinales²⁰.

2.2 Aspecto químico

2.2.1 Composición química de *Solanum radicans* L.F

En la composición química del *Solanum radicans* L.F se ha detectado la presencia de alcaloides, catequinas, cumarinas, saponinas, esteroides-triterpenoides, compuestos fenólicos^{19,20}, taninos, glucósidos y flavonoides¹³.

2.2.2 Alcaloides

Los alcaloides son uno de los más importantes metabolitos secundarios sintetizados por las plantas. El término alcaloide comúnmente se aplica a compuestos nitrogenados básicos de origen vegetal, que son fisiológicamente activos. Realmente no existe una definición sencilla de alcaloides, ya que en ella es difícil tener en cuenta las diferencias en cuanto a las estructuras y propiedades de los compuestos descritos en este grupo. Estructuralmente contienen uno o varios átomos de nitrógeno en su molécula, a menudo formando parte de un anillo heterocíclico, que manifiesta su actividad farmacológica y han sido biosintetizados de aminoácidos como precursores²¹. Debido a la complejidad de estructuras que presentan los alcaloides, su nomenclatura no ha sido esquematizada y su clasificación ha sido generalmente en base a la similitud con estructuras moleculares más simples, tales como alcaloides tropánicos (Figura 2), alcaloides

indólicos, alcaloides quinolínicos. Las propiedades fisicoquímicas de los alcaloides en medio ácido forman sales, siendo éstas solubles en agua e insolubles en solventes orgánicos.

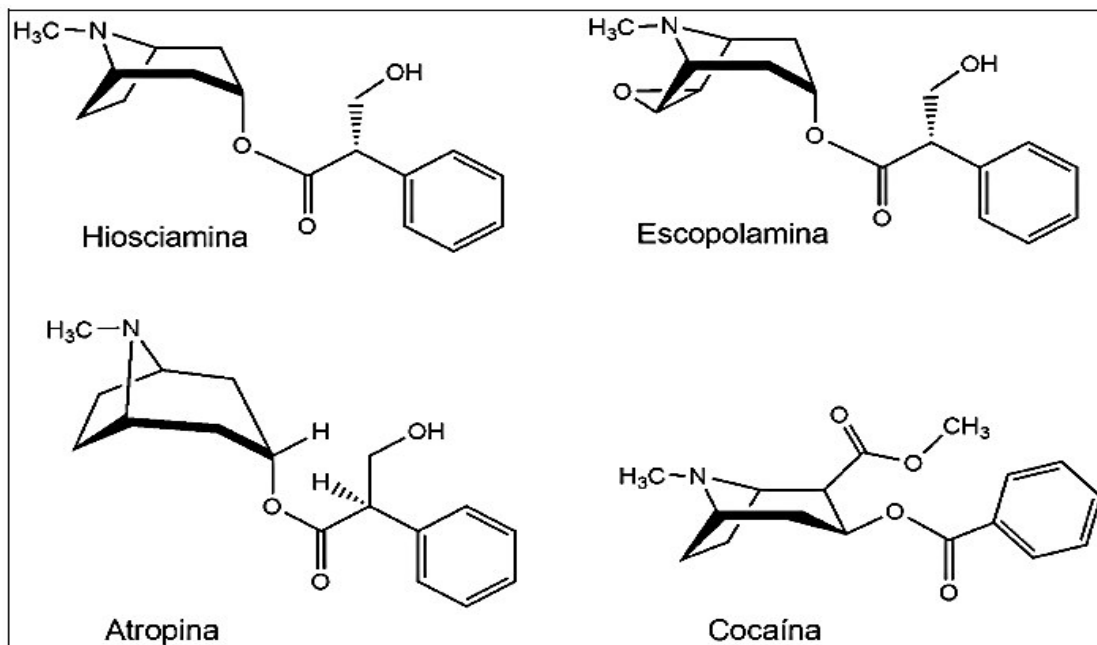


Figura 2. Alcaloides tropánicos²².

Los alcaloides tropánicos son derivados de los aminoácidos alifáticos ornitina y lisina, que se encuentran en un número muy pequeño de plantas Angiospermas, destacando la familia *Solanaceae*, y entre las especies representativas tenemos *Atropa belladonna*, *Datura stramonium*, *Hyoscyamus niger*, *Duboisia sp.* Las hojas constituyen las drogas de estas Solanáceas²².

Los alcaloides se encuentran en las semillas, raíces, cortezas y hojas, al estado libre o como glicósidos, o formando sales con ácidos orgánicos. Al año 1990 se reportaba alrededor de 7000 alcaloides aislados de aproximadamente 40 familias de plantas, principalmente de *Solanaceae*, *Papaveraceae*, *Rubiaceae*, *Ranunculaceae* y *Apocinaceae*^{21,23}. Se habla de plantas alcaloideas cuando tiene este metabolito en proporción mayor a 0,01%, y la mayoría contiene entre 0,1% a 3% (peso seco)²⁴.

Los principales alcaloides tropánicos de interés farmacológico son la hiosciamina, la atropina y la escopolamina. Estos alcaloides actúan fundamentalmente en el Sistema Nervioso Autónomo (SNA), donde presentan actividad farmacológica parasimpaticolítica, por ser antagonistas competitivos de los receptores colinérgicos muscarínicos²⁵. A nivel periférico sus efectos son muy variados, destacando la reducción del peristaltismo intestinal y motilidad gástrica; espasmolítico en caso de colitis, gastroenteritis, úlceras pépticas; broncorrelajación y midriasis^{24,26}. Los alcaloides son importantes porque actúan a muy bajas dosis, en muchos de los casos se conoce por su acción tóxica (efectos hepatotóxicos y cancerígenos, efectos alucinógenos). Así mismo, se han encontrado especies del género *Solanum* con presencia de alcaloides, que muestran actividad antibiótica frente ciertos hongos y bacterias²⁷, antiparasitarias, antiinflamatorias, anticancerígenas de la piel, hígado y colon²⁸, depurativa y antipirética²⁹, pero una sobredosis de este metabolito secundario puede ser letal, además se conoce por sus efectos abortivos^{30,31}.

2.2.3 Flavonoides

Los flavonoides son un grupo muy diverso de compuestos fenólicos, de los cuales se conocen más de 6000 estructuras diferentes. Están ampliamente distribuidos entre los vegetales superiores, sobre todo, en partes aéreas: hojas, flores y frutos. Los pigmentos flavonoides son responsables de las coloraciones de las flores de Angiospermas, son compuestos que presentan afinidad con el agua, se acumulan en las vacuolas celulares y otorgan asimismo una mayor variedad de colores, comprendidos desde el rojo carmesí al azul y violeta, rosado, blanco y amarillo²⁴.

El esqueleto común a todos los integrantes del grupo consta de dos anillos de seis átomos de carbono (designados con las letras A y B unidos mediante un puente de tres átomos de carbono que por lo común forma un tercer ciclo (anillo C) (Figura 3).

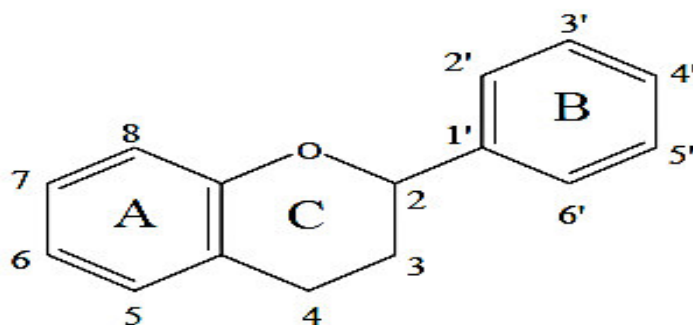


Figura 3. Estructura general de los compuestos flavonoides²².

Al modificar el esqueleto común de los flavonoides por glicosilación, oxidación, reducción o alquilación, el núcleo fenilpropanoide genera un escaso número de estructuras básicas de las cuales se deriva la amplia gama de flavonoides entre los que se incluyen: flavanonas, flavonoles, flavonas, flavanoles, antocianinas, flavanonoles, isoflavonas, chalconas y neoflavonas³². Todos los flavonoides se originan por la ruta biosintética mixta del ácido shikímico, además presenta estructuras hidroxiladas en el anillo aromático, por lo tanto, se consideran polifenoles. Entre sus propiedades fisicoquímicas muestra solubilidad en agua caliente, alcohol y solventes orgánicos²⁴.

Las flavonas y flavonoles, como pigmentos protectores, impiden o reducen el daño que produce la radiación UV sobre las plantas. Dentro de los flavonoles se encuentran incluidos los compuestos quercetina, rutina, miricetina y kaempferol (Figura 4).

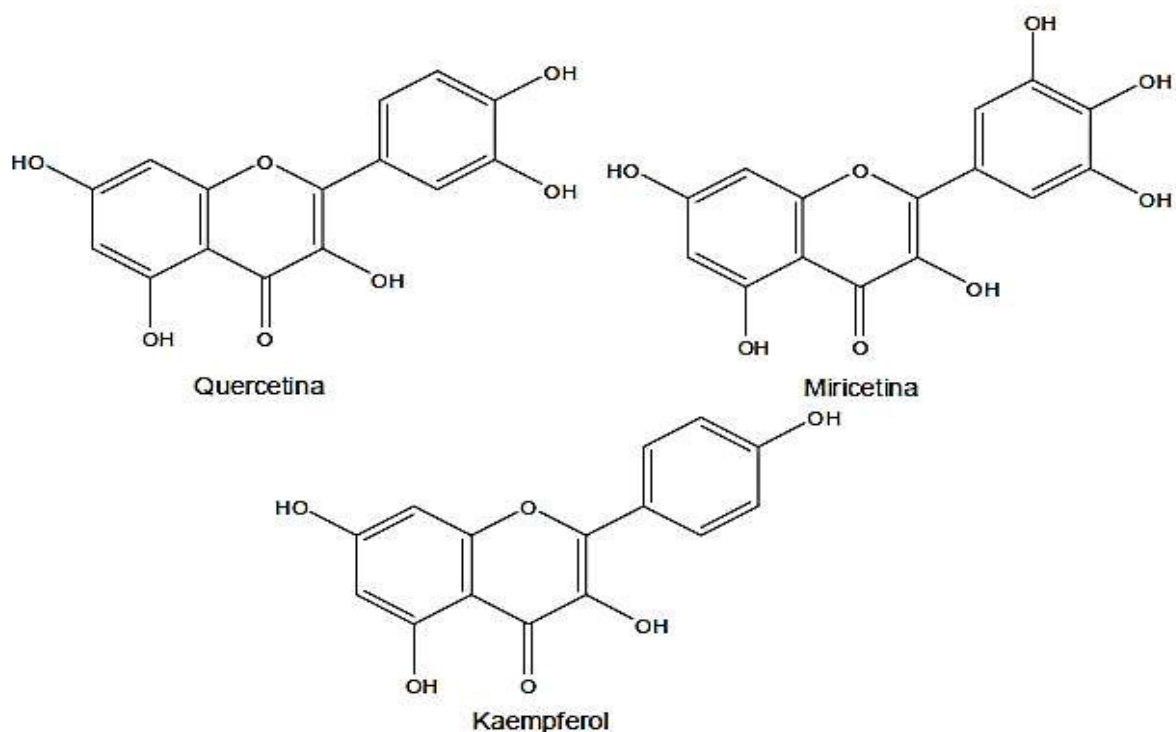


Figura 4. Estructura química de algunos flavonoles²².

La actividad medicinal de los flavonoides tiene un rol positivo en la nutrición del hombre y en la prevención de enfermedades. Un gran número de especies vegetales, entre ellas la familia *Solanaceae*³³ presenta diversas actividades, tales como antibacteriano³⁵, antiinflamatorio, antioxidante³⁶, anticancerígeno³⁴ y antiespasmódico digestivo^{37,38}.

Diversos estudios reportan la presencia de flavonoides, como rutina y quercetina^{39,40} en plantas del género *Solanum*, donde muestran actividades antidiarreica⁴¹, espasmolítica al inhibir las contracciones del músculo liso intestinal^{42,43} y antineoplásica⁴⁴.

2.3 Actividad biológica

2.3.1 Intestino delgado y motilidad

El intestino delgado se caracteriza por su gran área superficial debida a sus pliegues circulares, vellosidades y microvellosidades. Es la parte de mayor longitud del sistema gastrointestinal (aproximadamente 5 m), alrededor de 5% de su longitud inicial corresponde al duodeno (caracterizado por la ausencia del mesenterio), enseguida se ubica el yeyuno (alrededor del 40% de longitud intestinal), y finaliza con el íleon. Es el órgano de absorción y digestión alimenticia más importante en el organismo, estas funciones se realizan principalmente en duodeno y yeyuno⁴⁵.

Los tipos principales de movimiento intestinal son dos, segmentación y peristaltismo: a) El de segmentación es el más frecuente en el intestino delgado y consiste en contracciones de la capa muscular circular en zonas muy próximas (en el duodeno es de 11-12 contracciones por minuto y en el íleon de 8-9, esto provoca la división del intestino en segmentos pequeños, vecinos. b) El peristaltismo consiste en contracciones de secciones sucesivas del músculo liso circular, provocando el movimiento del contenido intestinal en forma anterógrada. La peristalsis se encuentra regulada sobre todo por la acción nerviosa del plexo mientérico en la pared intestinal, esto es, por el sistema nervioso regulador del propio aparato digestivo⁴⁵.

En el tracto gastrointestinal se almacenan, digieren y absorben los nutrientes y se eliminan los desechos correspondientes. Las alteraciones en su funcionamiento pueden provocar reflujo, esofagitis, úlceras pépticas, dispepsia, propulsión inadecuada del quimo y sólidos en el intestino delgado, colon y recto; diarrea, infecciones e inflamaciones⁴⁵.

2.3.2 Actividad antidiarreica

A. Diarrea

Se define como diarrea la deposición, tres o más veces al día (o con una frecuencia mayor que la normal para la persona) de heces sueltas o líquidas⁷. Es resultado de la presencia de fluidos en cantidad excesiva en el lumen intestinal, esto genera en forma rápida, un alto flujo de volúmenes de las heces que sobrepasa la capacidad de absorción del colon. En un cuadro diarreico, se presenta un incremento en la motilidad intestinal (hipermotilidad) que provoca un desplazamiento acelerado del contenido intestinal (disminución de consistencia), esto conlleva una mala digestión y absorción de nutrientes, y una pérdida excesiva de líquidos y electrolitos, lo que inclusive puede llevar a la muerte⁴⁶. El transporte de fluidos y electrolitos en la mucosa intestinal está regulado por células endocrinas, paracrinas e inmunes, las cuales a su vez son controladas por el sistema nervioso entérico (SNE), a través de neuronas secretomotoras las cuales terminan en la lámina propia y estimulan el paso de iones cloruro (Cl^-) hacia la luz intestinal, difusión pasiva de sodio (Na^+) y agua debido al aumento de la osmolaridad intraluminal⁴⁷. Los principales mediadores de la respuesta neuroendocrina por estimulación toxigénica son el péptido intestinal vasoactivo, 5 hidroxitriptamina y la acetilcolina, y también son regulados por la composición química del contenido luminal (Figura 5). El movimiento de agua a través del epitelio hacia la luz intestinal es un proceso pasivo que ocurre secundariamente a un gradiente osmótico, donde el cloro y el bicarbonato son los iones predominantes. La secreción de cloro depende de señales intra y extracelulares, lo que condiciona la acción de segundos mensajeros AMPc (Adenosín Monofosfato cíclico), GMPc (Guanosín Monofosfato cíclico) y calcio intracelular sobre proteínas transportadoras y canales de cloro, específicamente a nivel de las criptas en el intestino delgado⁴⁸. Las neuronas del plexo submucosal del intestino (Figura 6), terminan cerca de las células epiteliales de la mucosa y actúan incrementando o disminuyendo la absorción y la secreción. Los cuadros diarreicos suelen presentarse frecuentemente en la temporada de verano, esto quiere decir que la

aparición de altas temperaturas y la escasez de agua favorecen la aparición del patógeno o parásito causante de las mismas, acelera el crecimiento bacteriano y, junto con los factores conductuales de la persona, hacen que el patógeno entre en contacto con el huésped para causar estragos en el individuo⁴⁹.

Diarrea infecciosa y no infecciosa^{50,51}: La diarrea infecciosa es de etiología viral, bacteriana o parasitaria, donde el aislamiento de patógenos en niños con diarrea se consigue entre el 50 y 84% de los episodios, y el agente más frecuentemente aislado es el rotavirus. La diarrea no infecciosa es de etiología o causa inflamatoria, alérgica, endocrina, medicamentosa o por mala absorción. Algunos antibióticos producen diarrea hasta en un 50% de los casos, debido a que altera la microbiota intestinal. La diarrea tanto de etiología infecciosa como no infecciosa es el resultado de cambios que ocurren en el transporte de fluidos y electrolitos en el intestino delgado y/o grueso.

Epidemiológicamente, la diarrea constituye un problema de salud pública a nivel mundial. Las enfermedades diarreicas son frecuentemente causadas por infecciones y es la segunda causa de muerte de niños menores de cinco años, que ocasionan la muerte de 760 000 cada año, y en todo el mundo se producen unos 1700 millones de casos de enfermedades diarreicas cada año. Esta situación está asociada sobre todo a factores de pobreza, deficiente saneamiento básico y desnutrición⁵². En el Perú, el porcentaje del total de episodios de enfermedad diarreica aguda (EDA), según el grupo de edad fueron 54% en mayores de 5 años, 33% en niños de 1 a 4 años, y 13% en menores de 1 año; asimismo, según el tipo de EDA el 96,6% son acuosas y 3,4% disintéricas⁶. Entre 3% a 20% de los episodios de diarrea aguda en niños menores de 5 años se convierte en diarrea persistente⁵³.

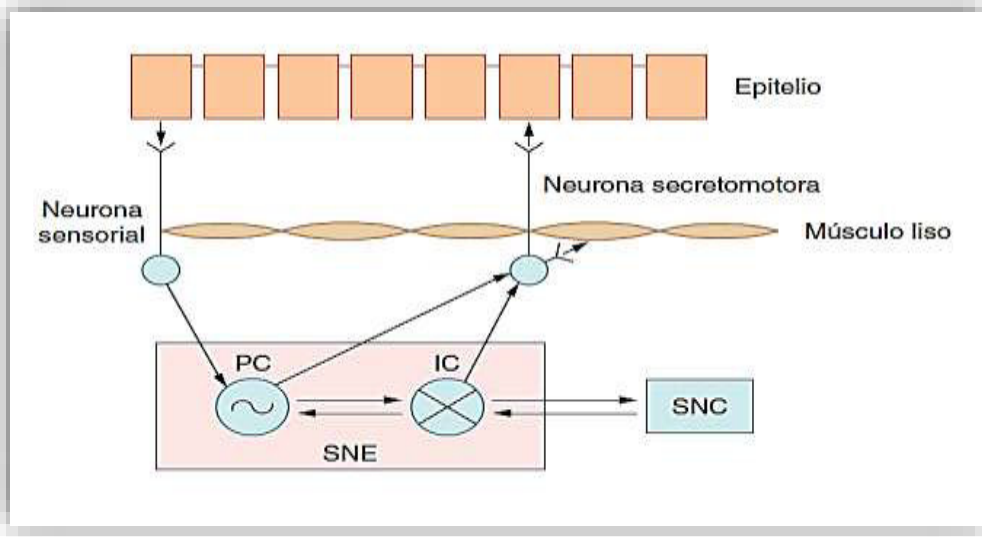


Figura 5. Esquema del sistema nervioso entérico (SNE) y sus interacciones con el sistema nervioso central (SNC). PC: circuito de programa; IC: circuito de integración⁵⁴.

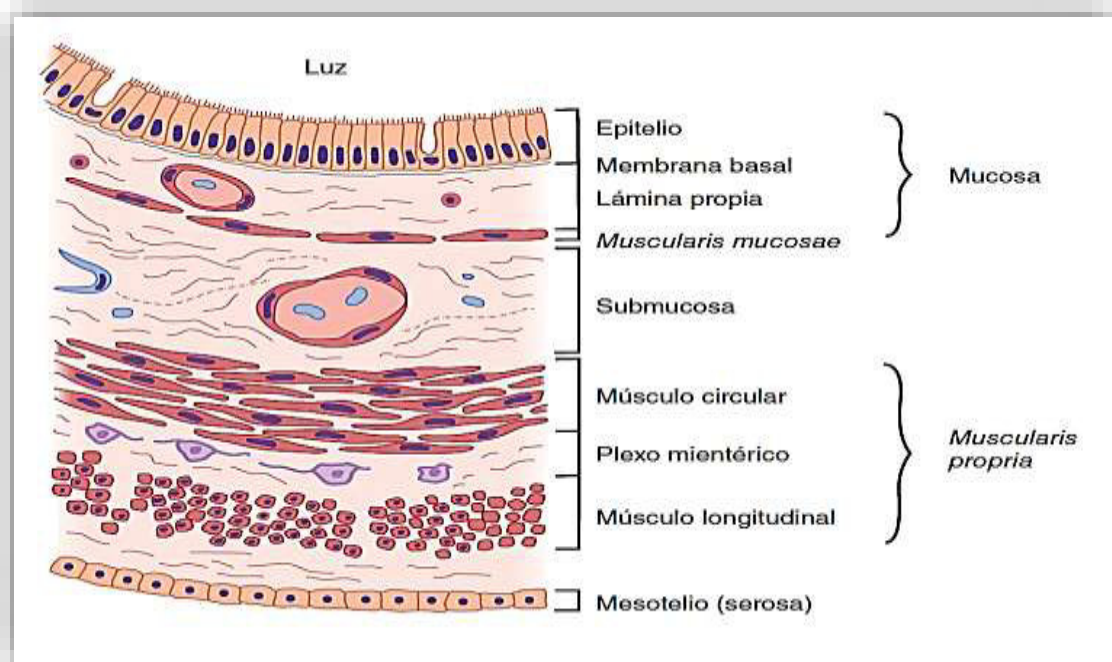


Figura 6. Organización de la pared del intestino hacia capas funcionales⁵⁵.

B. Tipos de diarrea

La diarrea puede ser aguda o crónica. La diarrea aguda es inherente a una infección bacteriana entérica o a una infección viral. La diarrea crónica está asociada a inflamaciones o enfermedades disfuncionales del intestino. En ambos casos pueden tener diferentes causas, tales como procesos infecciosos, cambios metabólicos, nerviosismo, estrés, pero siempre está asociada con hipermotilidad intestinal³⁷.

1. Diarrea aguda

Se define la diarrea aguda como la disminución de consistencia (líquida y acuosa) y el aumento de la frecuencia, fluidez y/o volumen de 3 o más deposiciones en 24 horas, con pérdida variable de agua y electrolitos, que puede ir acompañado de vómito, fiebre, dolor abdominal. La duración del episodio debe ser menor de 14 días con igual o diferentes características⁵⁰.

Los episodios de la enfermedad diarreica aguda (EDA) se pueden clasificar como: diarrea aguda acuosa, donde hay aumento en la frecuencia de fluidez y/o volumen de las deposiciones con duración menor de 14 días, este es el tipo de diarrea más frecuente y donde ocurre mayormente deshidratación por pérdida de agua y electrolitos (sodio, cloruro, potasio y bicarbonato); y la otra, es la diarrea aguda disintérica que presenta aumento en frecuencia y fluidez de las deposiciones, de volumen escaso o moderado y que además evidencia en las heces sangre visible y moco.

La OMS consideró denominar diarrea persistente cuando, aquella que siendo de etiología presumiblemente infecciosa, tiene un inicio brusco y dura más de 14 días y menor de 30 días, obedeciendo a una perpetuación del agente infeccioso y/o alteraciones funcionales/estructurales del aparato digestivo⁵⁶, en ocasiones hay pérdida de peso y en la mayoría de los casos, no se puede identificar un agente etiológico. El daño de la vellosidad y alteración de la mucosa intestinal puede

conllevar a una inadecuada absorción de nutrientes, por lo tanto es posible que exista intolerancia a disacáridos y/o a proteínas⁵⁷.

La diarrea ocurre por una contaminación, tales como hábitos inadecuados de manipulación y conservación de alimentos, además por la poca práctica del lavado de manos. Es una enfermedad generalmente autolimitada que obedece a múltiples etiologías⁵⁸. La causa más frecuente es por una infección con respuesta variable en los enfermos; algunos manifiestan cuadros graves, otros síntomas moderados y otros son asintomáticos.

En su etiología⁵⁰ de la diarrea aguda es diversa, la mayoría de casos es producida por infección entérica; en especial, en los niños es de origen viral. Los agentes patógenos que pueden causar diarrea aguda infecciosa con mayor frecuencia son: virus (rotavirus, norovirus, adenovirus), bacterias (*E. coli* enterotoxigénica, *E. coli* enteropatógena, *Shigella sp*, *Campylobacter sp*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella no typhi*), parásitos (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium sp*).

Fisiopatología⁵⁹: diariamente una gran cantidad de líquido fluye por el tubo digestivo, la mayor parte es eficientemente absorbida por el mismo intestino, eliminándose una pequeña cantidad en las heces. En condiciones normales, el proceso de absorción de líquidos predomina sobre el proceso de secreción de líquidos resultando en una absorción neta del agua. La diarrea ocurre cuando se altera este mecanismo y se produce una disminución en la absorción de líquidos o un aumento en la salida de líquidos hacia la luz intestinal. En caso de la diarrea infecciosa, los agente patógenos colonizan el epitelio intestinal y se adhiere a las células, dependiendo el patógeno, ocurre la producción de toxinas (citotoxinas, enterotoxinas) o invasión de la mucosa intestinal. Las enterotoxinas usualmente alteran la función de las proteínas transportadoras que ocasionan la pérdida de agua y electrolitos a través de las heces. En el caso de la invasión de la mucosa intestinal ocurre un proceso inflamatorio que causa daño al enterocito, destrucción de la microvellosidad intestinal, células epiteliales intestinales y en la submucosa, produciendo exudación de moco, proteínas y sangre hacia la luz del intestino. El

resultado final será la disminución de la consistencia de las heces y/o incremento en el número de evacuaciones. En los niños, la desnutrición puede hacer que la diarrea sea más severa, más prolongada y más frecuente.

2. Diarrea crónica

La función primaria intestinal es la digestión y absorción de nutrientes ingeridos, y cuando ocurre alteraciones de estas funciones se manifiestan con un síntoma común, denominado diarrea crónica⁶⁰. Las causas son muy variadas y dependen de la edad del paciente. La diarrea crónica es el aumento de la frecuencia y/o volumen de las deposiciones, donde tiene una duración más de 30 días. En general su etiología es no infecciosa, y es recurrente, observada en casos de sensibilidad al gluten, fibrosis quística, desordenes metabólicos, hereditario, de causa inflamatoria o autoinmune, entre otras⁶¹.

En la fisiopatología⁶² puede haber alteración estructural a nivel de la mucosa intestinal, en general, conlleva a una malabsorción, que es un conjunto de signos y síntomas que acompaña los trastornos de digestión y/o los trastornos de absorción de los nutrientes. La malabsorción puede ser consecuencia de un daño intestinal o intestino corto, deficiencia enzimática (insuficiencia pancreática o cáncer), defectos de transporte de nutrientes (absorción), insuficiencia exocrina pancreática, reducción de secreción biliar, alteración del enterocito (déficit de hidrolasas, lactasa, sacarasa). Para una adecuada digestión son necesarias las secreciones biliares, pancreáticas, enzimas del ribete cepillo del epitelio intestinal (enterocito), y para una adecuada absorción debe haber mucosa intestinal normal.

Las causas de diarrea crónica pueden ser principalmente funcionales u orgánicas⁶²:

- Diarrea crónica de causa funcional. Se encuentra el síndrome intestino irritable (SII), donde hay una sensación de dolor abdominal, donde presenta aumento de la frecuencia de las deposiciones con cambio en la apariencia de la materia

fecal (líquidos y/o con moco). Sin evidencia de procesos inflamatorios, metabólicos o neoplásicos que expliquen los síntomas. Se recomienda disminuir en la dieta el contenido de fibra e hidratos de carbono (lactosa, fructosa y sorbitol). También existe en caso de hipertiroidismo.

- **Diarrea crónica de causa orgánica.** Se produce cuando la diarrea es continua, no mejoran y más aún empeoran, con pérdida de peso y retraso en la talla, con deposiciones nocturnas de tipo esteatorreico o con moco y sangre, más aún si hay antecedentes familiares de patologías gastrointestinales o cirugías previas. Puede tener su origen en el intestino delgado o en el colon, aunque a veces la distinción no es fácil.

Otras causas de la de diarrea crónica son⁶³: osmóticas (laxantes a base de magnesio, fosfato, y carbohidratos no absorbidos); secretora (virus, bacterias, ácidos biliares, tumores secretoras); inflamatoria (colitis ulcerosa, *Salmonella*, *Clostridium difficile*, cáncer de colon); también están inducidos por fármacos (antibióticos, antivirales, antineoplásicos, agentes antiinflamatorios) y por ingesta de alcohol produciendo un tránsito intestinal rápido.

La diarrea crónica es menos frecuente en la niñez, que a diferencia del adulto se inicia los síntomas a una edad mayor de 40 años, de origen endócrino como las que acompañan al hipertiroidismo, a la diabetes y a tumores secretantes (vipomas)⁶⁰. Las pruebas necesarias para el diagnóstico de la diarrea crónica es la historia clínica (anamnesis y examen físico), los datos de edad, tipo de alimentación, presencia de agua potable, antecedentes patológicos y familiares; y también exámenes auxiliares básicos, como hemograma, examen de orina, coprocultivo, gastroscopia, entre otras.

Con el fin de precisar la severidad de la diarrea, su posible causa, así como el obtener elementos que permitan sospechar la presencia de otros problemas, se indaga sobre los siguientes puntos: (Tabla 1).

Tabla 1. Evaluación del paciente con diarrea⁵¹.

HISTORIA	EXAMEN FÍSICO	EVALUAR DESHIDRATACIÓN
-Comienzo, frecuencia y duración	-Peso y talla	-Estado general, se encuentra alerta
-Características: Moco, sangre, bilis	-Temperatura	-Pulso y presión sanguínea
-Antecedentes médicos: condiciones medicas subyacentes	-Frecuencia cardiaca y respiratoria	-Hipotensión postural
-Datos epidemiológicos	-Presión arterial	-Evaluar, mucosa, membranas y presencia de lagrimas
		-Ojos hundidos, turgor de la piel
		-Llenado capilar, presión venosa yugular
		-Fontanela hundida.

Afecta al estado general, particularmente por la deshidratación y por la conocida acción de las toxinas sobre el sistema nervioso central y sobre distintos órganos sobre todo el hígado. Pueden existir diferencias clínicas y semiológicas según el agente causal implicado (Tabla 2).

Tabla 2. Características diferenciales de la diarrea según el agente patógeno⁶⁴.

Características clínicas	Rotavirus	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica	<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva	<i>Escherichia coli</i> enteropatógena	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Campylobacter</i>	<i>Yersinia</i>
Edad	<3 años	<1 año Todas	Todas	<1 año	<2 años	>6 meses Todas	1–5 meses 6 años, todas	Todas
Fiebre (38,5°C)	Raro	Raro	Variable	Raro	Variable	Frecuente	Raro	Frecuente
Síntomas respiratorias	Común	No	No	No	No	Ocasional	No	No
Convulsiones	No	No	No	No	Ocasional	Ocasional	No	No
Diarrea	Líquida	Líquida	Líquida-moco	Líquida	Líquida-moco	Líquida-moco	Líquida-moco	Líquida-moco
Vómitos	± 60%	Sí	Raro	Sí	± 50%	± 70%	± 50%	± 40%
Sangre en heces	No	No	Común	No	± 30%	± 50%	± 50%	± 30%
Tenesmo	No	No	Común	No	Ocasional	Frecuente	Frecuente	Ocasional
Dolor abdominal	Ligero	Ligero	Moderado	Ligero	Moderado	Intenso	Moderado	Cólico
Leucocitos en heces	No	No	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí
Deshidratación	Ocasional	Ocasional	Raro	Ocasional	Ocasional	Raro	Raro	Raro
Riesgo de sepsis	No	No	Sí	No	Sí	Raro	Raro	Sí

C. Tratamientos

La Organización Mundial de la Salud⁷ recomienda prevenir la diarrea con medidas de control sanitario (higiénico-dietéticas). El tratamiento puede ser con coadyuvantes y fármacos antidiarreicos.

1. Tratamiento coadyuvante

- **Rehidratación oral:** La administración de soluciones de glucosa y electrolitos (cloruro sódico, cloruro potásico) son el primer tratamiento de la diarrea, independientemente de su etiología, y es aplicable a cualquier edad. Está incluida en las que existen lesiones de la mucosa, con la finalidad de evitar la deshidratación y reponer las pérdidas de agua y electrolitos⁶⁹.
- **Dieta:** Evitar alimentos con lactosa cuando hay carbohidratos mal absorbido. Usar dieta astringente para favorecer el buen funcionamiento del tracto gastrointestinal. Se recomienda utilizar algunos productos probióticos en el caso de diarrea inducida por antibióticos y sobrecrecimiento bacteriano⁷⁰.
- **Vitaminas y micronutrientes:** Se recomienda utilizar Zinc como coadyuvante en el manejo de las enfermedades diarreicas, sobretudo en niños menores de 5 años. El Zinc ha demostrado la reducción de la duración y gravedad de la diarrea, y la incidencia disminuye en los 3 meses posteriores⁷¹. Además, el aporte de vitamina A y otros minerales (magnesio y cobre) son parte del tratamiento⁵².

2. Fármacos antidiarreicos

Actúan mediante un efecto específico, atacando a la causa etiológica del proceso, o bien mediante un efecto inespecífico, paliativo de la sintomatología. Entre ellos se encuentra los opiáceos.

- **Opiáceos.** Son inhibidores de la motilidad intestinal con acción anticolinérgica como la atropina (Figura 7-a). Los fármacos más usados son Loperamida y Difenoxilato.

Difenoxilato⁶⁵

El Difenoxilato (Figura 7-b) es una piperidina opioide, con acción principalmente sobre receptores de opioides μ periféricos, sobre las neuronas entéricas aumentando las contracciones gastrointestinales, pero interrumpiendo el movimiento peristáltico, lo que retarda el tránsito intestinal, facilitando la absorción de líquidos. Se absorbe fácilmente tras su administración oral y se desesterifica dando lugar a la difenoxina, metabolito activo con una vida media de unas 12 horas. A dosis bajas (2.5 a 5 mg) sólo presenta acción periférica antidiarreica, mientras que a dosis altas (40-60 mg) produce efectos centrales (euforia, dependencia física). Como efectos secundarios puede aparecer depresión central

Loperamida^{65,66}

La Loperamida (Figura 7-c) en adultos está indicada para el control y alivio sintomático de la diarrea aguda inespecífica y diarrea crónica asociada con enfermedad inflamatoria del intestino. Se indica también para reducir el volumen de descarga y el número de las heces en ileostomías, colostomías y otras resecciones intestinales. En niños, puede ser utilizada en niños para tratar la diarrea causada por tránsito rápido, en el cual, la anatomía del intestino ha sido alterada por alguna enfermedad o procedimiento quirúrgico. También está indicado para el alivio sintomático de la diarrea secretora producida por bacterias, virus y parásitos.

Mecanismo de acción. La Loperamida, opioide derivado sintético de la piperidina, actúa sobre los receptores μ -opiáceos periféricos de las neuronas entéricas (tejido nervioso intestinal) y en el músculo liso, que inhibe la liberación de prostaglandinas y acetilcolina en el plexo mientérico (submucosal) de Auerbach, reduciendo el peristaltismo intestinal, disminuyendo la actividad muscular circular y longitudinal. Loperamida ejerce su acción antidiarreica por disminución del tránsito intestinal y aumentando el tiempo de contacto. Inhibe la secreción de líquidos y electrólitos y/o aumentando la absorción de agua y sales, de esa forma aumenta la consistencia de las heces y reduce el volumen fecal. Tiene propiedades antisecretoras leves e incrementa el tono del esfínter anal. Se administra en forma de clorhidrato que se absorbe por vía oral. Atraviesan escasamente la barrera hematoencefálica (BHE), por lo que tras ser absorbida, se concentra especialmente en el tubo digestivo y en el hígado, sin producir efectos en el sistema nervioso central (SNC). Farmacocinética: después de una dosis oral, se absorbe en un 40% por el tracto digestivo. Las concentraciones máximas se alcanzan a las 5 horas (tabletas). Unión a proteínas es aproximadamente 97 %. Vida media es entre 7-15 horas. Biotransformación es hepática. Eliminación es fecal / renal. Duración de la acción es hasta 24 horas. No se conoce la distribución de la Loperamida ni tampoco si atraviesa la placenta o si se excreta en un la leche materna. Contraindicado en: colitis severa; diarrea asociada con *Clostridium difficile* resultante de tratamiento con antibióticos de amplio espectro; disentería aguda; diarrea causada por organismos infecciosos; diarrea invasora; por reacción alérgica previa a la Loperamida.

Precauciones: en pacientes con disfunción hepática y en menores de 6 años. Descontinuar su administración en cuanto las heces estén formadas o bien no mejora en 48 horas (diarrea aguda) o en 10 días (diarrea crónica). En caso de intoxicación usar antagonista del opiáceo, como Naloxona. La Food and Drug Administration (FDA) advierte que tomar dosis superiores a las recomendadas, puede causar problemas cardíacos graves que pueden conducir a la muerte⁶⁷. Interacciones. El uso concurrente de Loperamida con un analgésico opioide puede incrementar el riesgo de constipación severa. Reacciones adversas: La

Loperamida es normalmente bien tolerada, sin embargo, puede haber dolor abdominal, somnolencia, mareos, sequedad de boca, constipación, náuseas y vómitos. Muy raras ocasiones en niños a dosis excesiva, produce íleo paralítico y depresión del SNC.

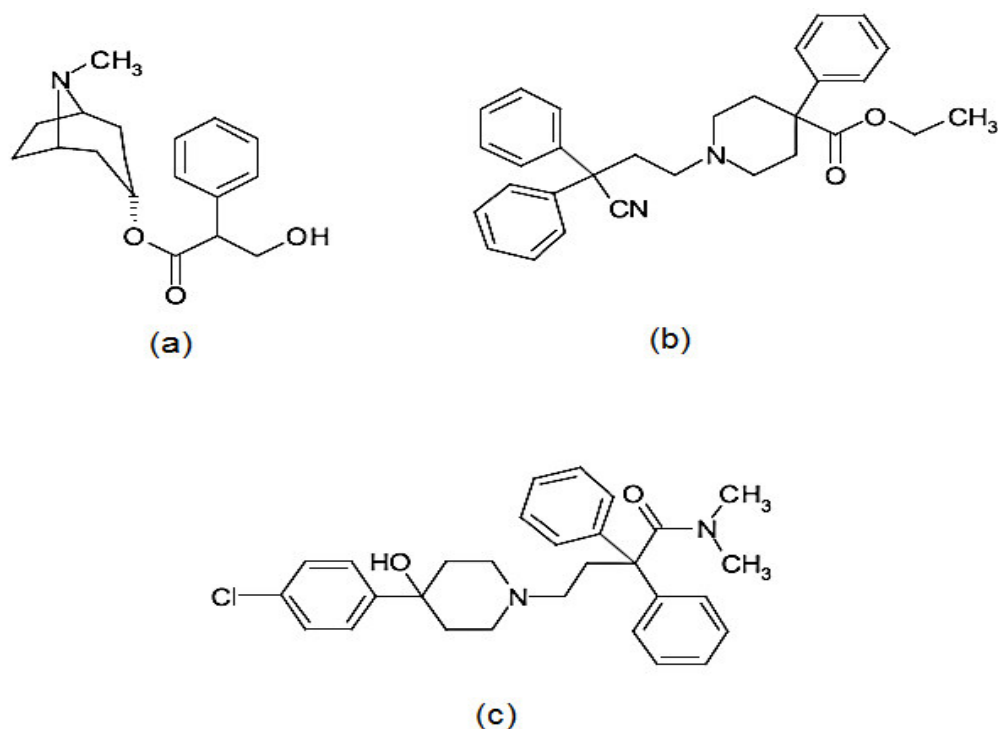


Figura 7. Estructuras químicas de algunos fármacos antidiarreicos. (a) Atropina, el éster formado por ácido trópico y tropina. (b) Difenoxilato y (c) Loperamida, son piperidinas opioides⁶⁵.

2.3.3 Actividad citotóxica

La toxicología alcanza enorme trascendencia social debido al importante número de sustancias químicas y su posible impacto sobre la salud pública y ambiental. Ello ha conducido al desarrollo de estrategias, que se refieren a reemplazar los animales de experimentación por otros métodos para reducir su número cuando sea necesario utilizarlos y aminorar su sufrimiento⁷². Dentro de diversos ensayos *in vitro* como método de toxicología alternativa útil y necesario, se encuentran los

ensayos de citotoxicidad. La citotoxicidad celular se define como una alteración de las funciones celulares básicas que conlleva a que se produzca un daño que pueda ser detectado⁷³. A partir de aquí, se han desarrollado diversas pruebas *in vitro* para predecir los efectos tóxicos de las drogas y los compuestos químicos, utilizando como modelos experimentales en líneas celulares (cultivos primarios y órganos aislados) y bioensayos.

Los bioensayos son pruebas en las que se usan organismos vivos para detectar o medir la presencia y efectos de una o más sustancias tóxicas, así como determinar el límite de tolerancia de los organismos a dichas sustancias. Además, sirve como base para determinar la seguridad de los recursos terapéuticos (Fitomedicamentos) incluyendo a las plantas medicinales.

Evaluación de la actividad biológica con *Artemia salina*:

El bioensayo de letalidad frente a *Artemia salina* es uno de los métodos más usados en las etapas preliminares de una investigación fitoquímica, desarrollada en 1982 por Meyer y Col⁷⁴, además se ha utilizado en diversos estudios toxicológicos y ecotoxicológicos (plaguicidas)⁷⁵ para la determinación de bioactividad de compuestos sintéticos y productos naturales⁷⁶. Tiene la ventaja de ser un bioensayo sencillo, rápido y altamente sensible, utilizando larvas desarrolladas a partir de sus respectivos huevecillos. La biología y la fisiología de *Artemia salina* se han estudiado extensamente, debido a que éstas son altamente sensibles a una gran variedad de sustancias químicas y/o extractos de plantas⁷⁶. Al exponer estos compuestos activos, en pequeñas cantidades, a nauplios de *Artemia salina*, permite determinar valores de la concentración letal media (CL50), expresada en µg/mL. La toxicidad se puede clasificar según los rangos presentados en la Tabla 3. Sin embargo el CL50 no advierte de una actividad fisiológica o biológica en particular; es un indicador de toxicidad a nivel celular que puede orientar investigaciones más específicas⁷⁷.

Tabla 3. Clasificación de toxicidad⁷⁸.

I	Extremadamente tóxico	0-10	µg/ml
II	Altamente tóxico	10-100	µg/ml
III	Moderadamente tóxico	100-500	µg/ml
IV	Ligeramente tóxico	500-1000	µg/ml
V	Prácticamente no tóxico	1000-1500	µg/ml
VI	Relativamente inocuo	<1500	µg/ml

Aspectos biológicos generales de la *Artemia salina*:

La *Artemia salina* (Figura 8) son camarones minúsculos de cuerpo blando, de color carmelita y transparente a la luz; pertenecen al Phylum Arthropoda, clase Crustaceae, subclase Branchiopoda. Son llamados también “monos de mar” o “brine shrimp” en inglés. Estas especies se encuentran distribuidas en todo el mundo en aguas de elevada salinidad, pueden crecer a temperaturas entre 6 y 35°C. Se alimentan de algas y bacterias. Las hembras producen huevos, que en condiciones externas favorables, eclosionan produciendo larvas de un tamaño aproximado de 1 mm, se convierten en adultos transcurridas 6 a 8 semanas, alcanzando un tamaño promedio de 7 mm. Se han vuelto muy importantes para este tipo de investigaciones debido a que no hay necesidad de mantener una colonia viva permanentemente, las pruebas pueden realizarse dónde y cuándo sea necesario y se dispone siempre de un número suficiente de individuos de la misma edad y condición fisiológica⁷⁹. La *Artemia* es cosmopolita, cuyo estado criptobiótico (quistes o huevos secos) está disponible comercialmente de manera continua, como fuente de alimentos para peces y crustáceos en acuicultura. Esto ha constituido un elemento clave en su utilización en ensayos biológicos.

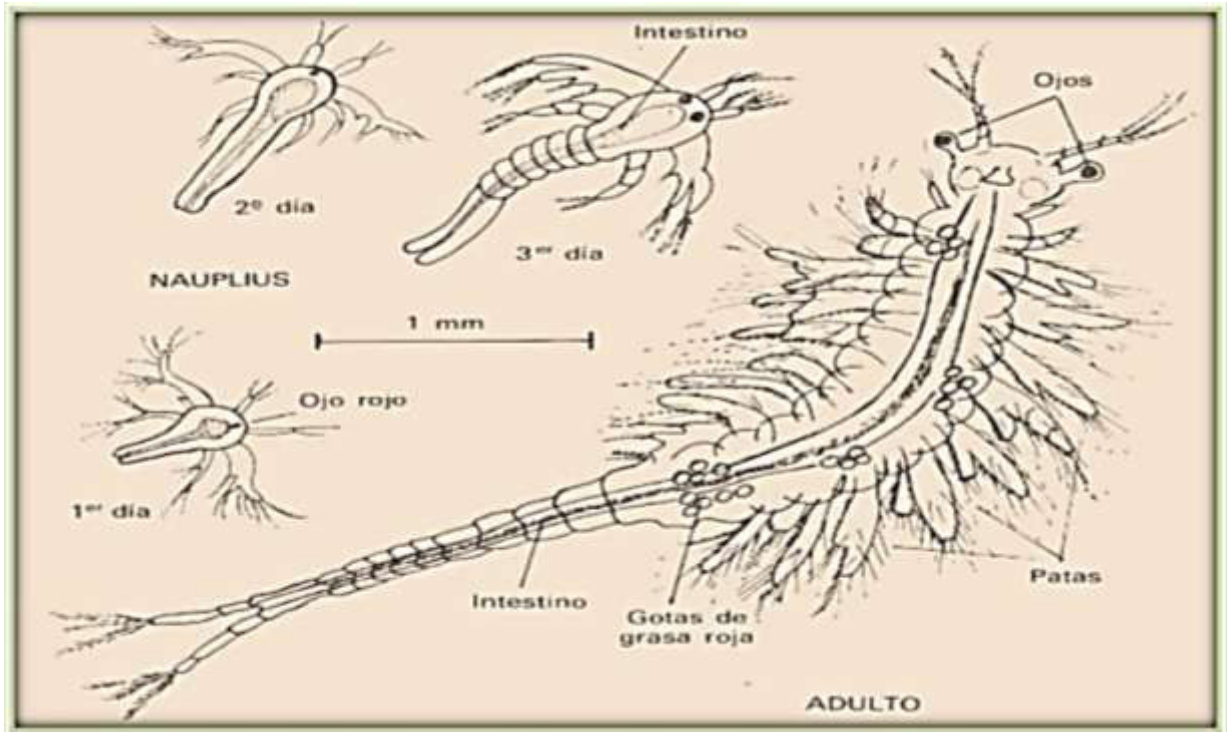


Figura 8. Metamorfosis de la *Artemia salina*⁸⁰.

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Materiales, equipos y reactivos

3.1.1 Material biológico

- Ratones albinos machos *Mus musculus* cepa Balb/c/CNPB, de aproximadamente 1,5 a 2 meses de edad, y peso entre 20 a 25 gramos (Anexo 2).
- *Artemia salina* donados por IMARPE (Instituto del Mar del Perú) y conservado a condiciones adecuadas en el laboratorio de Farmacognosia y Medicina Tradicional de la Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNMSM.
- Hojas frescas de *Solanum radicans* L.F “ñuchco hembra”.

3.1.2 Equipos de Laboratorio

- Licuadora Oster BLSTMG-T15
- Balanza analítica Acculab-ALC Sartorius Group
- Estufa Memmert GMBH + Co.KG Typ Um200
- pH metro
- Mesa de disección
- Equipo de disección
- Bomba de oxígeno
- Foco de luz
- Baño María (Memmert)

3.1.3 Material de Laboratorio

- Embudo de vidrio
- Sondas orogástricas para ratón
- Cronómetro
- Jeringa (1 mL, 5 mL)

- Papel filtro
- Placas Petri
- Espátula
- Gradilla
- Frascos de vidrio ámbar
- Baguetas
- Tubo de ensayos
- Viales de vidrio
- Capilares para Cromatografía
- Cuba cromatográfica de vidrio
- Sílica gel F₂₅₄
- Beaker (25 mL, 100 mL, 1000 mL)
- Fiolas (10 mL, 100 mL)
- Micropipetas
- Pipetas (5 mL)
- Pipetas Pasteur
- Picetas

3.1.4 Reactivos Químicos y Fármacos

- Solución salina estéril 0,9% (p/v)
- Loperamida (Toban F – Eurofarma)
- Sal marina
- Aceite ricino
- Etanol 96°
- Metanol (Merck)
- Agua destilada
- Butanol (Merck)
- Ácido acético (Merck)
- Estándar atropina (Merck)
- Estándar rutina (Merck)

- Estándar quercetina (Merck)

3.2 Entidades donde se desarrolló la investigación

La obtención del extracto etanólico por el método de macerado, el tamizaje fitoquímico y la determinación del ensayo de citotoxicidad con *Artemia salina*, se desarrollaron en el laboratorio de Farmacognosia y Medicina Tradicional de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

La determinación del efecto antidiarreico se desarrolló en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.3 Metodología

El presente trabajo de investigación es un estudio experimental, prospectivo y longitudinal.

3.3.1 Identificación botánica y taxonómica

La clasificación se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicado en av. Arenales 1256, Jesús María-Lima. Fue determinado según el Sistema de Clasificación de Cronquist 1998 (Anexo 1).

3.3.2 Recolección del material

El *Solanum radicans* L.F “ñuchco hembra” fue recolectada en la localidad de Huari, ubicado en el distrito de Huancán a 6 km al sur de la ciudad de Huancayo, departamento de Junín, a 3210 metros de altitud⁸¹ (Anexo 3).

3.3.3 Preparación del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F

Para obtención del extracto etanólico de *Solanum radicans* L.F se empleó las hojas frescas, seleccionadas y limpias. Posteriormente, se pesó 71 g de hojas frescas y se colocó en una licuadora, donde se procedió licuar con etanol 96° al 10% (p/v). Luego, se realizó la maceración durante siete días protegido de la luz y el calor en un frasco de vidrio de color ámbar de boca ancha. Transcurrido ese tiempo se filtró utilizando gasa estéril y papel filtro. El producto fue conservado a una temperatura ambiente en frasco ámbar herméticamente cerrado evitando su exposición a la luz solar para prevenir su degradación.

3.3.4 Estudio farmacognóstico

3.3.4.1 Prueba de solubilidad

En una batería de tubos de ensayo se colocó una pequeña cantidad del extracto etanólico seco, luego se agregó a cada uno 5 mL de uno de los solventes y se agitó por 2 a 3 minutos. Los solventes utilizados de acuerdo a su polaridad decreciente fueron: agua, etanol 96°, metanol, acetato de etilo, cloroformo, tolueno.

3.3.4.2 Tamizaje fitoquímico

La identificación de los tipos de metabolitos secundarios del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F, se realizó cualitativamente, mediante cambios de coloración o formación de precipitados^{21,82}.

3.3.4.3 Análisis cromatográfico²¹

- Muestra problema: extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F
- Muestra de referencia (a): estándar de atropina
- Muestra de referencia (b): estándar de rutina

- Muestra de referencia (c): estándar de quercetina
- Fase móvil: butanol: ácido acético: agua (4:1:5)
- Fase estacionaria: placa cromatográfica de Sílica gel F₂₅₄
- Solución reactivo revelador: solución de Dragendorff y Tricloruro de aluminio
- Procedimiento: Se concentró a semisequedad el extracto etanólico en baño María; después se aplicó con el capilar la muestra problema y de referencias (a, b y c) en la placa cromatográfica y se dejó que la fase móvil recorra hasta tres cuartos de la fase estacionaria, luego se revelaron con soluciones de Dragendorff, para atropina; y Tricloruro de aluminio, para rutina y quercetina.

3.3.5 Estudio farmacológico

3.3.5.1 Determinación del efecto antidiarreico del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F

Para el modelo de inducción del efecto diarreico con aceite ricino⁸³, se emplearon 36 ratones albinos *Mus musculus* procedentes del Instituto Nacional Salud (INS), de sexo macho y con peso de 20-25 gramos. Se les acondicionó un ambiente higiénico y fueron aclimatados en jaulas metálicas con temperatura ambiente de 20-22 °C por una semana, con acceso a alimento y agua *ad libitum*. Los animales fueron privados de alimento y mantenidos solo con agua durante las 12 horas previas al experimento. Luego, fueron distribuidos aleatoriamente en 6 grupos de 6 ratones cada uno, para los respectivos tratamientos como se muestra en la Tabla 4.

Los grupos del 2 al 6 iniciaron la inducción recibiendo aceite ricino, y el grupo 1 recibió solo suero fisiológico. Luego, de 30 min se administraron Loperamida y los extractos A, B, C, mediante sonda orogástrica y transcurridos 30 min, carbón activado al 10% (0,1 mL/10 g de peso) por igual vía a cada animal. Pasados 60 min, se sacrificaron los ratones por dislocación cervical e inmediatamente se les extrajo el tubo digestivo desde el cardias hasta la válvula ileocecal. Se midió el desplazamiento del carbón activado desde el píloro hasta el lugar más distal

donde llegó esta sustancia marcadora. Se consideró como el 100% el largo total del intestino desde el píloro hasta la válvula ileocecal, para calcular porcentualmente el desplazamiento del carbón en cada animal.

Tabla 4. Dosis de las sustancias evaluadas.

Grupos	Tratamientos	Nº de Animales	Dosis	Vía de Administración
1	Suero fisiológico	6	10 mL/Kg	Oral
2	Aceite ricino	6	10 mL/Kg	Oral
3	Aceite ricino + Loperamida	6	2 mg/Kg	Oral
4	Aceite ricino + Extracto A*	6	400 mg/Kg*	Oral
5	Aceite ricino + Extracto B*	6	600 mg/Kg*	Oral
6	Aceite ricino + Extracto C*	6	900 mg/Kg*	Oral

(*) Extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F

3.3.5.2 Análisis estadístico

Los datos se presentaron como media (promedio) +/- desviación estándar. La diferencia entre los grupos tratados se determinó mediante el análisis de varianza (ANOVA), considerándose significativo $p < 0,05$. Todo el procedimiento se realizó con el programa SPSS (Statistical Package for Social Sciences), versión 22,0 en español.

3.3.6 Evaluación de la citotoxicidad en *Artemia salina*⁷⁸:

Se preparó agua de mar artificial (38 g de sal marina, disuelto en 1 L de agua destilada), y se filtró con papel filtro. Se colocaron aproximadamente 50 mg de huevos de *Artemia salina* en un beaker con 350 mL del agua de mar, y de inmediato se trasladó a un lugar con luz artificial y con bomba de oxígeno con

burbujeo lento, durante 72 horas hasta que los huevos hayan eclosionado en nauplios.

Por otro lado, se preparó la solución madre 1000 ug/mL (10 mg del extracto seco de *Solanum radicans* L.F en 10 mL de agua de mar), a partir de esta solución se prepararon concentraciones de 5, 10, 15, 20, 25 y 30 ug/mL, transfiriendo a cada vial 25, 50, 75, 100, 125 y 150 uL respectivamente, siendo trabajados cada concentración por triplicado.

El procedimiento se inició agregando a cada vial 1 mL de agua de mar. Después, se agregaron a cada vial 10 nauplios (30 nauplios por concentración) y la solución madre requerida. Luego, se agregó agua de mar hasta completar 5 mL por vial. Inmediatamente, a cada vial se le agregó, además, una gota de suspensión de levadura (3 mg de levadura seca en 5 mL de agua de mar), como alimento. Después de 24 horas se contó y anotó el número de sobrevivientes de nauplios en cada concentración.

3.3.6.1 Análisis estadístico

En base a la relación dosis-respuesta, el análisis estadístico de los grupos tratados se determinó mediante el programa Probit, versión 1,63 con una confiabilidad al 95%.

IV. RESULTADOS

4.1 Estudio farmacognóstico

4.1.1 Prueba de solubilidad

Tabla 5. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F “ñuchco hembra”.

Solventes	Grado de solubilidad	Resultado
Agua destilada	++++	Muy soluble
Etanol	+++	Soluble
Acetato de etilo	+	Ligeramente soluble
Metanol	++	Poco soluble
Tolueno	+	Ligeramente soluble
Cloroformo	++	Poco soluble

4.1.2 Tamizaje fitoquímico

Tabla 6. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F “ñuchco hembra”.

Metabolitos	Reactivo	Resultado
Azúcares	Molish	+++
Compuestos fenólicos	Tricloruro de hierro	++
Taninos	Gelatina	++
Aminoácidos	Ninhidrina	++
Flavonoides	Shinoda	+++
Esteroides	Lieberman-Burchard	+++
Antronas y antranonas	Borntrager	-
Alcaloides	Dragendorff	++++
Alcaloides	Mayer	+++
Antocianinas y flavonoides catéquicos	Rosenheim	-
Grupo carbonilo	Hidroxilamina	-
Leyenda: ++++ : Muy alta cantidad +++ : Alta cantidad ++ : Poca cantidad + : Ligera cantidad - : Ausencia		

4.1.3 Análisis Cromatográfico

Tabla 7. Cromatografía en capa fina del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F utilizando como estándar atropina 1%.

Sistemas de solventes	Butanol: ácido acético: agua (4:1:5)
Revelador	Solución de Dragendorff
Rf (St)	0,25
Rf (Mp)	0,22

Leyenda: St: estándar. Mp: muestra problema. Rf: factor de retención.

Tabla 8. Cromatografía en capa fina del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F utilizando como estándar rutina.

Sistemas de solventes	Butanol: ácido acético: agua (4:1:5)
Revelador	Solución de Tricloruro de aluminio 1%
Rf (St)	0,46
Rf (Mp)	0,45

Leyenda: St: estándar. Mp: muestra problema. Rf: factor de retención.

Tabla 9. Cromatografía en capa fina del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F utilizando como estándar quercetina.

Sistemas de solventes	Butanol: ácido acético: agua (4:1:5)
Revelador	Solución de Tricloruro de aluminio 1%
Rf (St)	0,92
Rf (Mp)	0,90

Leyenda: St: estándar. Mp: muestra problema. Rf: factor de retención.

4.2 Estudio farmacológico

Tabla 10. Efecto antidiarreico del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F en ratones.

Tratamiento	Longitud total del intestino (cm)	Desplazamiento del carbón (cm)	% de disminución del movimiento peristáltico
<i>Solanum radicans</i> L.F 900 mg/Kg	53,33 ± 3,20	22,17 ± 5,12	58,15 ± 10,59
<i>Solanum radicans</i> L.F 600 mg/Kg	54,67 ± 3,01	18,50 ± 5,54 *	65,67 ± 11,75
<i>Solanum radicans</i> L.F 400 mg/Kg	50,50 ± 5,05	14,50 ± 12,13 *	69,66 ± 25,67**
Loperamida 2 mg/Kg	50,33 ± 2,16	18,33 ± 4,59 *	63,42 ± 9,58
Aceite ricino 10 mL/Kg	53,50 ± 2,81	17,17 ± 3,76 *	67,77 ± 7,36 **
Control (suero fisiológico)	52,17 ± 3,31	30,50 ± 6,16	41,02 ± 13,96

Los valores son expresados como media ± desviación estándar ANOVA. (*) Existe diferencias significativas entre las medias con respecto al grupo control ($p < 0,05$). (**) Existe diferencias significativas entre las medias con respecto al grupo control ($p < 0,05$).

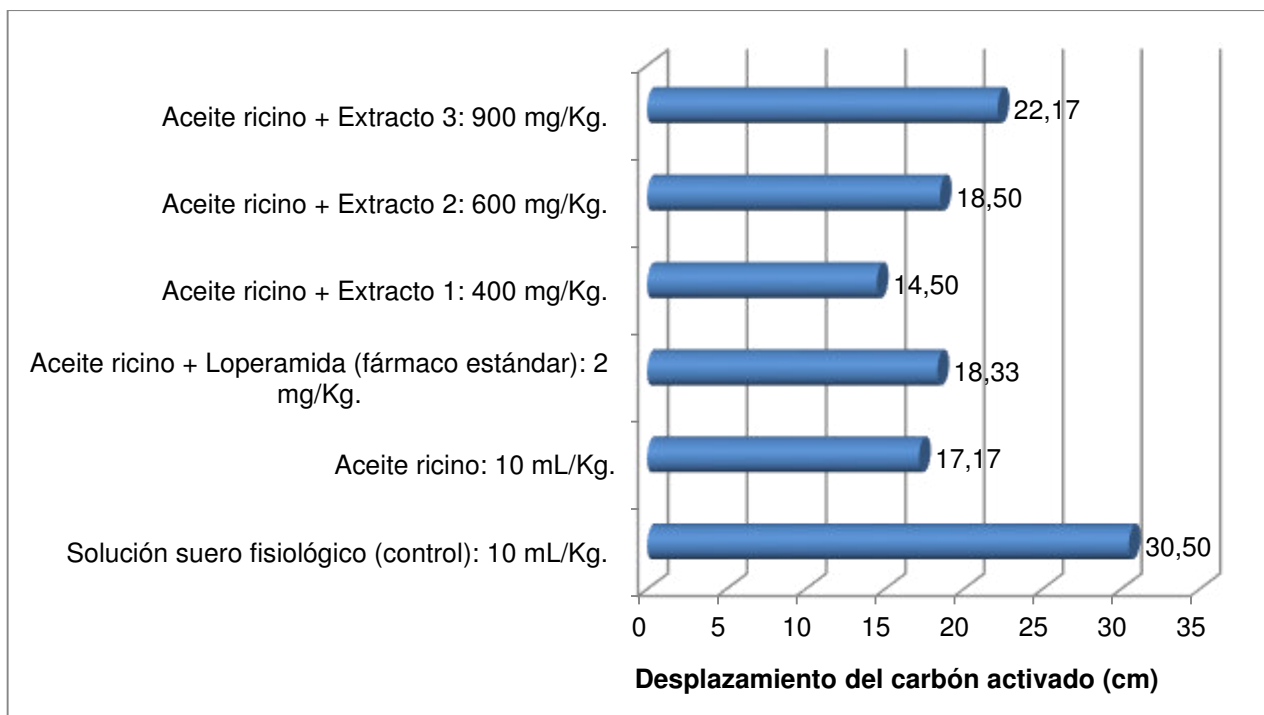


Figura 9. Desplazamiento del carbón activado por el movimiento peristáltico en ratones.

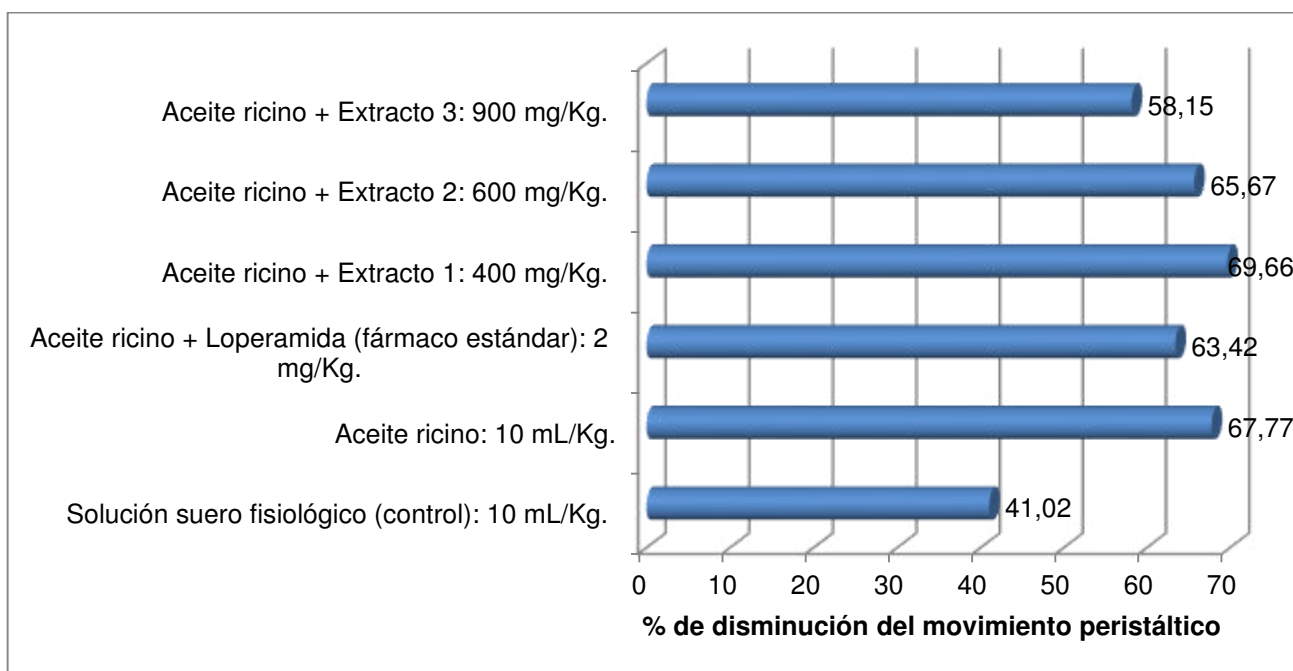


Figura 10. Porcentaje de disminución del movimiento peristáltico en ratones.

4.3 Evaluación de la citotoxicidad en *Artemia salina*

Tabla 11. Concentración letal media (CL50) del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F frente a nauplios de *Artemia salina*.

Concentraciones del extracto etanólico de <i>Solanum radicans</i> L.F (ug/mL)	Log ₁₀ (C)	N° de Artemias	N° de Artemias muertas	% de mortalidad	CL50 (ug/mL)
0		10	0	0	12,83
5	0,7	10	2	20	
10	1,0	10	3	30	
15	1,2	10	5	50	
20	1,3	10	7	70	
25	1,4	10	8	80	
30	1,5	10	9	90	

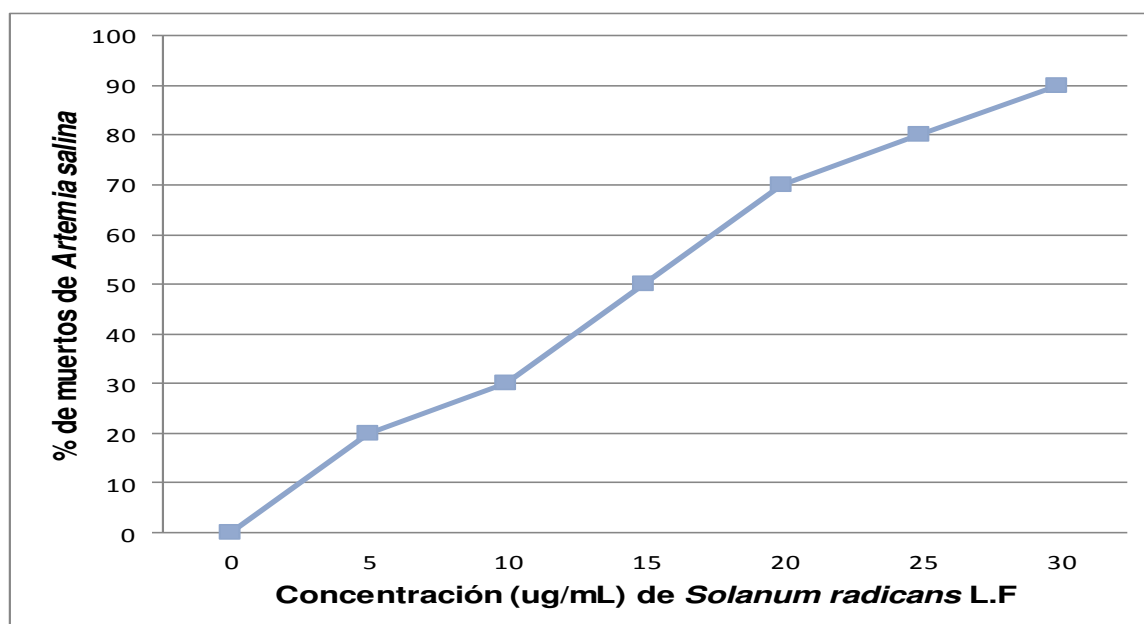


Figura 11. Porcentaje de mortalidad de nauplios de *Artemia salina* producido por el extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F en el ensayo de citotoxicidad.

V. DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivos evaluar el efecto antidiarreico y citotoxicidad del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F “ñuchco hembra”. Es necesario mencionar que el aporte científico que se ha obtenido como resultado del presente estudio dará a la población una mayor validez en el uso de esta especie vegetal como medicina tradicional y así mismo queda abierta la posibilidad para la industria de las plantas medicinales de establecer su composición química y elaborar una presentación farmacéutica que garantice su uso terapéutico.

En el estudio fitoquímico del extracto etanólico de hojas de la planta se determinó que posee una mayor cantidad de alcaloides, flavonoides, azúcares, esteroides, compuestos fenólicos, taninos y aminas libres (Tabla 6), se debe precisar la existencia de poca bibliografía específica que facilitaría una comparación. Sin embargo, de los pocos estudios realizados con *Solanum radicans* L.F los hallazgos son similares en lo que a componentes activos se refiere, así Vásquez y cols.¹³ y Chávez²⁰ encontraron cantidad moderada de alcaloides, esteroides y flavonoides. Otros estudios con resultados parecidos lo obtuvieron Chang³¹, Paixão⁸⁴ en variedades de *Solanum*. En el análisis por cromatografía en capa fina se detectaron la presencia de alcaloides utilizando como estándar atropina; y flavonoides, utilizando estándares de rutina y quercetina; para ello, se utilizaron reactivos reveladores, donde presentaron reacción positiva; luego se determinaron el Rf del extracto y estándares siendo estos valores semejantes (Tabla 7, 8, 9), de manera que estos resultados se encuentran dentro del rango determinado por Wagner⁸⁵. También ha sido reportado en especies de *Solanum*, la presencia de rutina y quercetina^{31,86}. El alcaloide presente en el extracto es probable que presenten el núcleo químico del tropano por lo que se evidencia cierto grado de acción sobre la motilidad gastrointestinal. En nuestro trabajo al igual que su uso popular, no se podría precisar si estos metabolitos secundarios están en mayor porcentaje en alguna parte específica de la planta dado que se utiliza varias partes

de la especie. Los esteroides, compuestos fenólicos, flavonoides y taninos están presentes; los taninos son sustancias no nitrogenadas solubles en agua y alcohol, de sabor astringente y que forman precipitados con las sales metálicas, proteínas y alcaloides⁸⁷.

La actividad antidiarreica se determinó por el modelo de inducción del efecto diarreico con aceite de ricino. Esta sustancia libera ácido ricinoleico y origina la irritación e inflamación de la mucosa intestinal, lo que conduce a la liberación de prostaglandinas, estas estimulan la motilidad y la secreción⁸⁸. Por tanto, el modelo de aceite de ricino permite estudiar en la diarrea tanto el factor de secreción como la motilidad. El ácido ricinoleico también participa en la reducción de la absorción de sodio (Na⁺), potasio (K⁺) y la disminución de la actividad de la ATPasa de K⁺ y Na⁺ en el intestino delgado y el colon, con ello, da lugar a la modificación en el transporte de electrolito y agua⁸⁹. La diarrea implica aumento de la secreción y motilidad gastrointestinal, así como la disminución de la absorción de agua y electrolitos⁴⁶. Se trabajó en ratones a partir del extracto de esta planta y se observó diferencia estadística significativa del extracto a dosis de 400 mg/Kg, mayor que a 600 mg/Kg, expresada esta por el desplazamiento del carbón en el intestino. A dosis de 900 mg/Kg se observó un mayor desplazamiento del carbón, comprobándose un efecto no proporcional a esta dosis. Este resultado confirma un mayor efecto antidiarreico que posee el extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F “ñuchco hembra” a dosis de 400 mg/Kg en relación a la de 600 mg/Kg y 900 mg/Kg (Tabla 10). El efecto antidiarreico promovido por las hojas de esta planta puede estar asociada con la presencia de alcaloides^{3,69} y flavonoides^{4,37}. Comparando el porcentaje de disminución del movimiento peristáltico del extracto de *Solanum radicans* L.F frente a una droga de referencia como Loperamida, se confirmó su efecto antidiarreico evidenciado por el desplazamiento del carbón activado mucho menor que del control con un $p < 0,05$.

Utilizando diferentes solventes se pudo establecer su solubilidad, siendo soluble mayormente en agua y etanol (Tabla 5). Su solubilidad en agua facilitó su

reconstitución del extracto en este solvente para su posterior administración orogástrica y la determinación de su efecto farmacológico. Se presume que los efectos farmacológicos de esta especie vegetal se deban a la presencia de alcaloides y flavonoides. En estudios anteriores se han reportado similares resultados, donde especies del *Solanum* con presencia de alcaloides y flavonoides en los extractos, presentan actividad antidiarreica en ratones a dosis de 500 mg/Kg con 48,7% de inhibición intestinal⁹⁰; y a esa misma dosis el extracto mostró 44,1% de inhibición intestinal, resultado similar cuando se comparó con Loperamida que tuvo 47,5% de inhibición intestinal⁹¹. Otros resultados parecidos obtuvieron Vasconcelos⁹² y Clementino⁹³ que comprobaron el efecto antidiarreico a dosis de 500 y 680,6 mg/Kg respectivamente; además de las propiedades antiespasmódicas⁹⁴, antibacterianas⁹⁵, antiinflamatorias⁹⁶, entre las más importantes. Según la OMS, la diarrea es la segunda causa de muerte principalmente en niños, causando alrededor de 760 mil muertes al año⁷; y en Perú, la prevalencia de EDA en adultos y niños sigue siendo alta, donde la morbilidad a nivel nacional se reportó 1347423 casos de número de atenciones al 2013, en los establecimientos del Ministerio de Salud⁹⁷. Con este enfoque, en Perú, Brasil⁹⁰ y México⁹⁸ existen diversas plantas medicinales del género *Solanum*, las cuales en su uso popular se han utilizado tradicionalmente como antidiarreicas y para tratar otros padecimientos gastrointestinales.

El ensayo de citotoxicidad se realizó con extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F para la determinación de la concentración letal media (CL50) frente a nauplios de *Artemia salina*. Inicialmente se evaluaron concentraciones de 50, 75, 100, 125 µg/mL; cada concentración se evaluó por triplicado con su respectivo blanco, mostrando alta actividad citotóxica, con una mortalidad de nauplios del 100%. La ausencia de individuos vivos no permitió determinar el CL50 mediante el método Probit; por esta razón, se llevó a cabo una variación en las concentraciones, disminuyendo la concentración del extracto etanólico de esta planta a 5, 10, 15, 20, 25 y 30 µg/mL.

Los resultados del bioensayo con *Artemia salina* a las 24 horas fueron procesados con el programa estadístico Probit versión 1,63; obteniéndose la concentración letal media (CL50) de 12,83 ug/mL (Tabla 11) con una confiabilidad al 95% de 8,43 ug/mL y 17,40 ug/mL; resultado que de acuerdo a CYTED⁷⁸ el extracto etanólico de esta especie vegetal es altamente tóxico (Tabla 3).

Mediante el proceso de extracción usado para esta planta, se obtuvo una mezcla compleja de compuestos químicos, que pueden dar un efecto sinérgico y aportar un grado de actividad al extracto de *Solanum radicans* L.F. Hasta el momento aún no se han realizado estudios sobre la citotoxicidad del extracto de esta especie vegetal, pero se encontraron otros autores que han evaluado la actividad citotóxica frente a *Artemia salina* en los extractos etanólicos de las hojas del género *Solanum*, donde Cea y cols.⁹⁹ encontraron CL50 de 172,54 µg/mL, y Sanabria y cols.¹⁰⁰ obtuvieron CL50 de 241 µg/mL. Otro resultado parecido obtuvo Gupta⁴³ que realizó el mismo bioensayo con los frutos del *Solanum*, cuyo CL50 fue 476,93 ug/mL. Comparando el CL50 de estos reportes mencionados del género *Solanum*, se encontró que el extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F evaluado en este proyecto presenta una mayor actividad citotóxica con un valor de CL50 de 12,83 ug/mL.

El resultado de mortalidad puede significar la existencia de grupos de compuestos químicos potencialmente activos presentes en el extracto, debido a que los nauplios de *Artemia salina* presentan una cutícula muy fina, lo que las hace especialmente sensibles a estas sustancia tóxicas en el extracto, donde estos penetran a través de las barreras fisiológicas absorbiéndose rápidamente y provocando diferentes alteraciones en estos organismos como la muerte de los nauplios por citotoxicidad¹⁰¹. La capacidad de citotoxicidad de *Solanum radicans* L.F, posiblemente se debe a la presencia de alcaloides, ya que reportes anteriores muestran el interés farmacológico, pero a altas dosis es tóxico^{31,43}.

VI. CONCLUSIONES

1. Los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F “ñuchco hembra” son alcaloides, flavonoides, esteroides y taninos.
2. Se determinó mayor efecto antidiarreico a 400, que a 600 y 900 mg/Kg de peso corporal del extracto etanólico seco.
3. El extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F presentó actividad citotóxica frente a nauplios de *Artemia salina*, determinándose la concentración letal media (CL50) de 12,83 ug/mL.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda identificar y cuantificar los metabolitos secundarios responsables de la actividad antidiarreica.
2. Realizar estudios para determinar si tiene actividad antimicrobiana frente a microorganismos enteropatógenos.
3. Investigar sobre la actividad antioxidante, ya que presenta compuestos fenólicos y flavonoides, el cual cumplen un rol positivo en la nutrición del hombre y en la prevención de enfermedades.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kvist L, Oré I, Gonzales A, Llapapasca C. Estudio de plantas medicinales en la amazonía peruana: una evaluación de ocho métodos etnobotánicos. *Folia amazónica*. 2001. Vol. 12 (1-2).
2. Organización Mundial de la Salud (OMS). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. OMS. Suiza. 2013: 12-26.
3. Bowman WC, Rand MJ. Farmacología. Bases bioquímicas y patológicas. Aplicaciones clínicas. Nueva Editorial Interamericana. 2^{da} edición. México. 1984.
4. Gálvez J, Duarte J, Sánchez de Medina F, Jiménez J, Zarzuelo A. Inhibitory effects of quercetin on guinea-pig ileum contractions. *Phytotherapy Research*. 1996; 10: 66-69.
5. Mata R, Rojas A. Smooth muscle relaxing flavonoids and terpenoids from *Conyza filaginoides*. *Planta Med*. 1997; 63(1): 31-50.
6. Ministerio de Salud (MINSA). Dirección General de Epidemiología. *Bol. Epidemiol (Lima-Perú)*; 2016: 25 (2).
7. Organización Mundial de la Salud (OMS). Las enfermedades diarreicas. Nota descriptiva N° 330. Abril 2013. (en línea). [Acceso 28 diciembre 2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/es/>
8. Knapp S, Spooner DM, León B. El libro rojo de las plantas endémicas del Perú. Ed. Blanca León et al. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. *Rev. Perú. Biol*. 2006; 13(2): 612-643.
9. Evans W. Pharmacognosy. Edición 16. WB Saunders Company Limited. London. 2009.
10. Strasburger E, Noll F, Schenck H, Schimper AFW. Tratado de botánica. Sexta edición española. Editorial Marín SA. Barcelona. 1981: 701-703.
11. Font Quer P. Diccionario de botánica. Segunda edición. Ediciones Península SA. Barcelona. 2001: 833.
12. Soukup J. 1970. Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana y Catálogo de los géneros. Edición 2. Edit. Salesiana. p.292-382.

13. Vázquez L, Ecurra J, Aguirre R. Plantas Medicinales del Norte del Perú. Edición 1. Edit. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo y FINCyT. 2010: 104.
14. Macbride J. Flora of Perú (*Solanaceae*). Part V-B. Number 1. Publication 951. Vol.13. Edit. Field Museum de Natural History. Chicago. 1962: 188.
15. Linneo CV. Jardín Botánico de Missouri. 1762. (en línea). [Consultado 23 mayo 2018]. Disponible en: <http://www.tropicos.org/Name/29600137>
16. Villalba R, Cabrera D. Estudio de Plantas Medicinales Región Arequipa. Capítulo III. 1992: 226.
17. Zegarra R. Biodiversidad y taxonomía de la flora desértica sur peruana: familia *Solanaceae*. Chile. Vol. 23, No 3. 2005: 73-74.
18. Red de Información de Recursos de Germoplasma (GRIN). 2010. United States Department of Agriculture. (en línea). [Consultado 8 enero de 2018]. Disponible en: <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=101452>
19. Agapito T, Sung I. Fitomedicina 1100 Plantas Medicinales. Edit. Isabel, Lima. Tomo I. 2009: 207.
20. Chávez E, Guevara WO. Estudio Fitoquímico del *Solanum radicans* L.F. (ñuchco). Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico: Universidad San Luis Gonzaga de Ica; 1998.
21. Lock O. Investigación Fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima. 2^{da} edición. 1994.
22. Ringuelet J, Viña S. Productos Naturales Vegetales. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Editorial de la Universidad de La Plata. Buenos Aires. 1^{ra} edición. 2013: 18-57.
23. García HG. Aislamiento, modificación estructural y evaluación biológica de metabolitos secundarios de *Withania aristata* (*Solanaceae*), endemismo canario. Tesis doctoral: Universidad de La Laguna, España. 2009: 15.
24. Delporte C. Alcaloides y Flavonoides. Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica. Universidad de Chile. 2010: 9-55.

25. Soejarto DD. Curso de Plantas Medicinales. Tratado de Cooperación Amazónica. Perú. 1991: 120.
26. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. México, McGraw-Hill Interamericana. 2003: 163-181.
27. Boll PM, Lillevik HA, Gottshall RY, Lucas EH. Antibacterial substance in seed plants active against tubercule bacilli. III. Solanocapsine, the antibacterial alkaloid of *Solanum pseudocapsicum*. Antibiot Ann. 1995: 255.
28. Cham B, Maeres H. Glycoalkaloids from *Solanum sodomaceum* are effective in treatem of skin cancers in man. Cancer Letters. 1987; 36 (2): 111-118.
29. Argueta A, Gallardo MC. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. 1994; 2: 807.
30. Garner RJ. Toxicología veterinaria. 3^{ra} edición, Editorial Pueblo y Revolución. La Habana, Cuba. 1980: 394-396.
31. Chang L, Rosabal Y, Morales J. Composición Fitoquímica de los tallos y hojas de la especie *Solanum nigrum* L. que crece en Cuba. Universidad de Granma. Bayamo, Cuba. 2012. Disponible 15 noviembre 2017. http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol18_1_13/pla03113.htm
32. Seigler SD. Plant Secondary Metabolism. Oklahoma, E.U.A. 1998: 151-192.
33. Arrázola S, Atahuachi M, Saravia E. Diversidad florística medicinal y potencial etnofarmacológico de las plantas de Los Valles Secos de Cochabamba-Bolivia. Rev. Bol. Ecol. 2002; 12: 69-75.
34. Bruneton J. Farmacognosia, plantas medicinales. 2da edición. Zaragoza-España: Editorial Acribia S.A. 2001: 229-399.
35. Kuklinski C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1^{ra} edición. Barcelona-España: Omega. 2000: 112-114.
36. Williams CA, Harborne JB. Flavone and flavonol glycosides. In: J.B. Harborne, Editor. The Flavonoids: Advances in Research Since 1986, Chapman & Hall, London. 1994: 337-385.

37. Astudillo A, Mata R, Navarrete A. El reino vegetal, fuente de agentes antiespasmódicos gastrointestinales y antidiarreicos. Rev. Latinoamer. Quím. 37/1. México. 2009.
38. Van den Broucke CO, Lemli JA. Antispasmodic activity of *Origanum compactum*. Part 21: Antagonistic effect of thymol and carvacrol. Planta Medica. 1982; 45: 188-190.
39. Carvalho MG, Sarmento TM, Braz-Filho R, Agra MF. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do género *Solanum* (*Solanaceae*), Química Nova, Vol. 26, N° 4. 2003: 517-522.
40. Brack A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. PNUD. Centro de estudios regionales andinos "Bartolomé de las Casas". Perú, 1999: 461-462.
41. Di Carlo G, Autore G, Izzo AA, Maiolino P, Mascolo N, Viola P, Diurno MV, Capasso F. Inhibition of intestinal motility and secretion by flavonoids in mice and rats: structure-activity relationships. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 1993; 45(12): 1054-1059.
42. Capasso R, Izzo A, Pinto L, Bifulco T, Vitobello C, Mascolo N. Phytotherapy and quality of herbal medicines. Fitoterapia. 2000; 71: 58-65.
43. Gupta MP. Plantas medicinales iberoamericanas. Edición de la organización del convenio Andrés Bello. 1ra edición. Panamá. 2008: 851-868.
44. Zand RSR, Jenkins DJA, Diamandis EP. Breast Cancer Res. Treatment. Vol. 62. 2000: 35-49.
45. Berne R, Levy M. Fisiología. Madrid, España. 1995: 352-367.
46. Estrada S, Rodríguez A, Castañeda C. Spasmolytic action of *Lepechinia caulescens* is through calcium channel blockade and NO release. Journal of Ethnopharmacology, Vol. 114. 2007: 364-370.
47. Farthinga MJ, Casburn A, Banks MR. Getting control of intestinal secretion: thoughts for 2003. Digestive and Liver Disease. 2003; 35: 378-385.

48. Petri WA, Miller M, Binder H, Levine M, Dillingham R, Guerrant R. Enteric infections, diarrhea and their impact on function and development. J Clin Invest. 2008; 118(4): 1277-1290.
49. Méndez PI, Tejeda MA, Salvador RI. Relación estadística entre la temperatura ambiente y las enfermedades diarreicas en Coatzacoalcos, Veracruz (México). Boletín del Instituto de Geografía – Universidad Nacional Autónoma de México. (en línea). [Consultado 10 enero de 2017]. Disponible en: <http://www.revistas.unam.mx/index.php/rig/article/view/23866/41904>
50. Ministerio de Salud (MINSA). Guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad diarreica aguda en la niña y el niño. Perú, 2017. (en línea). [Consultado 20 mayo de 2018]. Disponible en: ftp://ftp2.minsa.gob.pe/normaslegales/2017/RM_N%C2%B0_755-2017-MINSA.pdf
51. Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Diarrea Aguda. 2008. (en línea). [Consultado 20 de mayo 2018]. Disponible en: http://www.worldgastroenterology.org/assets/export/userfiles/2012_Acute%20Diarrhea_SP.pdf.
52. Organización Mundial de Gastroenterología (WGO). Diarrea aguda en adultos y niños: una perspectiva mundial. EEUU. 2012.
53. Rivera J. Manejo integral del niño con diarrea crónica. Rev. Perú. Pediatr. 2008; 61(3): 170.
54. Barrett KE. Gastrointestinal Physiology. New York. Lange Medical Books/McGraw-Hill, Medical Pub. División. 2006.
55. Madara J, Anderson JM. Epithelia: biologic principles of organization. Edit. T. Yamada. Philadelphia: Lippincott . 4^{ta} Edición. 2003: 151-165.
56. WHO. Diarrhoeal Diseases Control Programme - Persistent diarrhoea in children in developing countries. Report of a WHO meeting Bull WHO. 1988; 66: 709-717.
57. Braga de Andrade JA, Fagundes U. Persistent diarrhea: still an important challenge for pediatricians. J Pediatr (Rio J). 2011; 87(3): 199-205.

58. García LL, Burón RP, La Rosa PY, Martínez PM. Factores de riesgo de las enfermedades diarreicas agudas en menores de 5 años. Revista de Ciencias Médicas. La Habana. 2014.
59. National Institute for Health and Care Excellence. Diarrhoea and Vomiting Caused by Gastroenteritis: Diagnosis, Assessment and Management in Children Younger than 5 year. London UK: Nice; 2009. (en línea). [Consultado 4 de enero de 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK63844/>
60. Fernández F, Esteve M. Diarrea crónica. Síntomas gastrointestinales frecuentes. Hospital Mutua Terrassa, Barcelona. Sección 1. Capítulo 7. 2012: 125 -145.
61. Canales RP, Alliende GF. Diarrea crónica en el niño. Rev Chil Pediatr. 2012; 83(2): 179-184.
62. Toca M. Diarrea aguda y crónica. Módulo 2, capítulo 3. Buenos Aires. Edit. Ideográfica. Pronap. 2012: 72-95.
63. Schiller LR, Sellin JH. Diarrhea. En: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, eds. Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management. Saunders-Elsevier. Philadelphia. 2010: 211-32.
64. Delgado A, De Aristegui J. Diarrea aguda. Gastroenteritis. En: Manuel Cruz. Tratado de Pediatría. 9na edición. Madrid: Editorial Ergon. 2006: 1125-1133.
65. Jafri S, Pasricha PJ. Fármacos usados para diarrea, estreñimiento y enfermedad inflamatoria intestinal; fármacos usados para enfermedades biliar y pancreática. 2003. En: Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 10ª edición. Vol. I. México. p.1051-1072.
66. Benedí J. Formación continuada. Diarrea Tratamiento sintomático. Facultad Farmacia. UCM. Vol. 19, Núm. 5. 2005: 59-62.
67. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID). Food Drug Administration (FDA). Loperamida – Altas dosis genera graves problemas del corazón. Lima-Perú, 2016. (en línea). [Consultado 27 de

- mayo 2018]. Disponible en:
<http://www.digemid.minsa.gob.pe/Main.asp?Seccion=3&IdItem=2033>
68. Guía de práctica clínica. Atención, diagnóstico y tratamiento de diarrea aguda en adultos en el primer nivel de atención. México. (en línea). [Consultado 30 de mayo 2018]. Disponible en:
http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/106_GP_C_Diarreaagudaadultos/SSA_106_08_GRR.pdf
69. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Tratamiento de la diarrea. Manual clínico para los servicios de salud. 11ava edición; Washington DC.: OPS 2008. (en línea). [Consultado 29 de mayo 2018]. Disponible en:
<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/166083/1/9789275329276.pdf>
70. Polanco AI y Carrasco GS. Terapia nutricional en las diarreas crónicas. En Isabel Polanco A. Nutrición Profiláctica y Terapéutica. Madrid-España. Saned Editores. 1991: 174-191.
71. Lopez de Romaña G, Cusirramos S , Lopez de Romaña D, Gross R. Efficacy of multiple micronutrient supplementation for improving anemia, micronutrient status, growth and morbidity of Peruvian infants. J Nutr. 2005; 135: 646-652.
72. Huggins J. Alternatives to animal testing: research, trends, validation, regulatory acceptance. Alternatives to Animal Experimentation. 2003; 20: 3-61.
73. Repetto M. Toxicología Fundamental. Métodos alternativos, Toxicidad in vitro. Sevilla, España: Ediciones Díaz de Santos, Enpses-Mercie Group. Tercera edición. 2002: 303-305.
74. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. Planta Médica. Vol. 45. 1982: 31-34.
75. Vanhaecke P, Persoone G. The ARC-Test: a standardized short-term routine toxicity test with *Artemia nauplii*. Methodology and evaluation. Ecotoxicological Testing for the Marine Environ. 1984: 143-157.

76. McLaughlin JL, Lingling LR, Anderson JE. The use of biological assays to evaluate botanicals. New York. Drug Information Journal. Vol. 32. 1998: 513-524.
77. Sánchez L, Neira A. Bioensayo general de letalidad en *Artemia salina*, a las fracciones del extracto etanólico de *Psidium guajava*. L y *Psidium guineense*. Sw. Química de alimentos UPTC. Colombia. 2005: 40-45.
78. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Manual de Técnicas de Investigación. Proyecto X-L Búsqueda de principios activos en plantas medicinales. Rev Cubana Plant Med. Ciudad de la Habana. 1995; 16(1): 81-83.
79. Pino PO, Lazo FJ. Ensayo de Artemia útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. Revista Protección Vegetal. 2010; 22(1): 34-43.
80. Ortuño BL, Rosa UES, Guzmán ADG. Ejecución de bioensayos y asistencia en estudios de impacto ambiental. Educación en Ciencia y Tecnología del Mar. Guía de aprendizaje. 2009.
81. Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). Conociendo Junín. Edición OTD, Lima. 2001: 13.
82. Gorriti A. Manual de Farmacognosia y Productos Naturales Terapéuticos. UNMSM. Lima; 2013.
83. Shoba FG, Thomas M. Study of antidiarrhoeal activity of four medicinal plants in castor oil induced diarrhoea. Journal of Ethnopharmacology. 2001; 76: 73-76.
84. Paixão A, Mancebo B, Sánchez LM, Walter A, Fontes-Pereira AM, Soca M, et al. Tamizaje fitoquímico de extractos metanólicos de *Tephrosia vogelii* Hook, *Chenopodium ambrosoides*, *Cajanus cajan* y *Solanum nigrum* L. de la provincia de Huambo, Angola. Rev. Salud Anim. Vol. 36. Nº 3, La Habana. 2014.
85. Wagner H, Bladt S. Plant drug analysis. 2da Edición. Edit. Springer New York. 1996: 24-360.

86. Espil N. Plantas tóxicas: “duraznillo blanco” (*Solanum glaucophyllum*, *Solanaceae*), reconocimiento y potencial aprovechamiento industrial. Las tesis de Belgrano. Universidad de Belgrano, Buenos Aires. N° 527. 2012.
87. Raintree Nutrition, Tropical Base Databank. Inc Carson City, Nevada 89701. Database File for. 2006.
88. Rouf ASS, Islam MS, Rahman MT. Evaluation of antidiarrhoeal activity *Rumex maritimus* root. Journal of Ethnopharmacology. 2003; 84: 307-310.
89. Bafna P, Bodhankar S. Gastrointestinal effects of Mebarid, an aryuvedic formulation, in experimental animals. Journal of Ethnopharmacology. 2003; 86: 173-176.
90. Barros PC. Avaliação das atividades antidiarreica e antiespasmódica de *Solanum asterophorum* Mart. (*Solanaceae*). Requisito para obtener el título de Maestría en Nutrición, Universidad Federal de Alagoas. Brasil. 2010: 59-74.
91. Tenório JAB, Do Monte D, Da Silva TMG, Da Silva TG, Ramos CS. *Solanum paniculatum* root extract reduces diarrhea in rats. Revista Brasileira de Farmacognosia 26. 2016: 375-378.
92. Vasconcelos LHC, Clementino J, Silva PCB, Souza TMS, Silva BA, Cavalcante FA. Efeito antidiarreico de *Solanum paniculatum* L. (*Solanaceae*) envolve alterações na motilidade na secreção intestinal. Revista de fitoterapia Barcelona: Ediciones Rol. Vol. 12. 2012: 145.
93. Clementino J, Pereira JC, Vasconcelos LHC, Souza LLL, Silva ADS, Silva TMG, et al. Toxicological, Antidiarrheal and Spasmolytic Activities of *Solanum paniculatum*. Planta Med. 2016; 82: 58-64.
94. Cavalcante J. Avaliação da atividade espasmolítica das partes aéreas e das raízes de *Solanum paniculatum* L.: um estudo comparativo. Universidad Federal da Paraíba centro de Ciências da Saúde curso de Graduação em Farmácia. Requisitos para obtenção do título de Bacharel em Farmácia. João Pessoa-PB. 2013: 81.

95. Correa Q, Bernal H. Especies vegetales promisorias de los países del convenio Andrés Bello: *Baccharis*. Bogotá. SECAB. Ciencia y Tecnología. 1990; 5: 170-236.
96. Cáceres A. Determinación fitoquímica y de actividad antifúngica de cultivares de *Solanum americanum* Miller y caracterización de preparaciones para la industria fitofarmacéutica. Universidad De San Carlos De Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Dirección General De Investigación (DIGI). Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB). 2006.
97. Ministerio de salud (MINSA). Análisis de situación de salud del Perú. Dirección general de epidemiología. Primera edición. Lima. 2013: 61-78.
98. Escobedo C, Bah M, Gutiérrez DM, Mendoza S, Rojas A. La metilprotodioscina como nuevo marcador quimiotaxonómico del género *Solanum*. Rev. Soc. Quím. Méx. (Núm. Especial 1). 2004: 48.
99. Cea RO, Herrera WI. Determinación de la bioactividad citotóxica de extractos de 25 especies vegetales de uso materno infantil mediante ensayo simple con *Artemia salina*. Para optar al grado de licenciado en Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 2002: 55-67.
100. Sanabria A, López SI, Gualdrón R. Estudio Fitoquímico preliminar y Letalidad sobre *Artemia salina* de plantas colombianas. Rev. Col. Cienc. Quím. Farm. 1997; 26: 15-19.
101. González PY, Aportela GP. Determinación de la toxicidad aguda del bicromato de potasio en larvas de *Artemia salina*. Centro de Toxicología y Biomedicina. Anuario Toxicología. 2001; 1(1): 104-108.

IX. ANEXOS

ANEXO 1



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Integración Nacional y el Reconocimiento de Nuestra Biodiversidad"

CONSTANCIA N° 82-USM-2012

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM), DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (completa), recibida por el alumno **SAUL MALPARTIDA CONDOR**, estudiante de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha sido estudiada y clasificada como: ***Solanum radicans* L. F.**, y tiene la siguiente posición taxonómica según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: SCROPHULARIALES

FAMILIA: SOLANACEAE

GENERO: ***Solanum***

ESPECIE: ***Solanum radicans* L. F.**,

Nombre vulgar: "Ñuchco"

Determinado por: Blgo. Severo Matías Baldeón Malpartida.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada y para los fines de investigación.

Lima, 4 de mayo de 2012



DRA. HAYDEE MONTOYA TERREROS
JEFA
HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Yrene H.

ANEXO 2

		INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO	
CERTIFICADO SANITARIO N°		<div>016-2017</div>	
Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M - 04 - 2017
Especie	: <u>Mus musculus</u>	Cantidad	: 40
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 1.5 a 2 meses
Peso	: 20 a 24 g. y mayor 25 g.	Sexo	: Machos
G.R.	: 033788	Destino	: Limaymanta Gonzales, Jhery.
			Ate - Lima
Fecha	: 23-01-2017		
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias * .</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p> <p>Chorrillos, 20 de Enero del 2017 (Fecha de emisión del certificado)</p> <div><div>NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</div><div> M.V. Arturo Rosales Fernández. C.M.V.P. 1586</div></div>			

ANEXO 3



Figura 12. Anexo de Huari, distrito de Huancán, provincia de Huancayo, departamento de Junín.



Figura 13. Planta y flor de *Solanum radicans* L.F.

ANEXO 4



Figura 14. Hojas frescas seleccionadas de *Solanum radicans* L.F y filtración del macerado en embudo y con papel filtro.



Figura 15. Preparación de las diferentes concentraciones del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F, siendo tres viales por cada concentración, para el ensayo de la actividad citotóxica en *Artemia salina*.

ANEXO 5



Figura 16. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F.

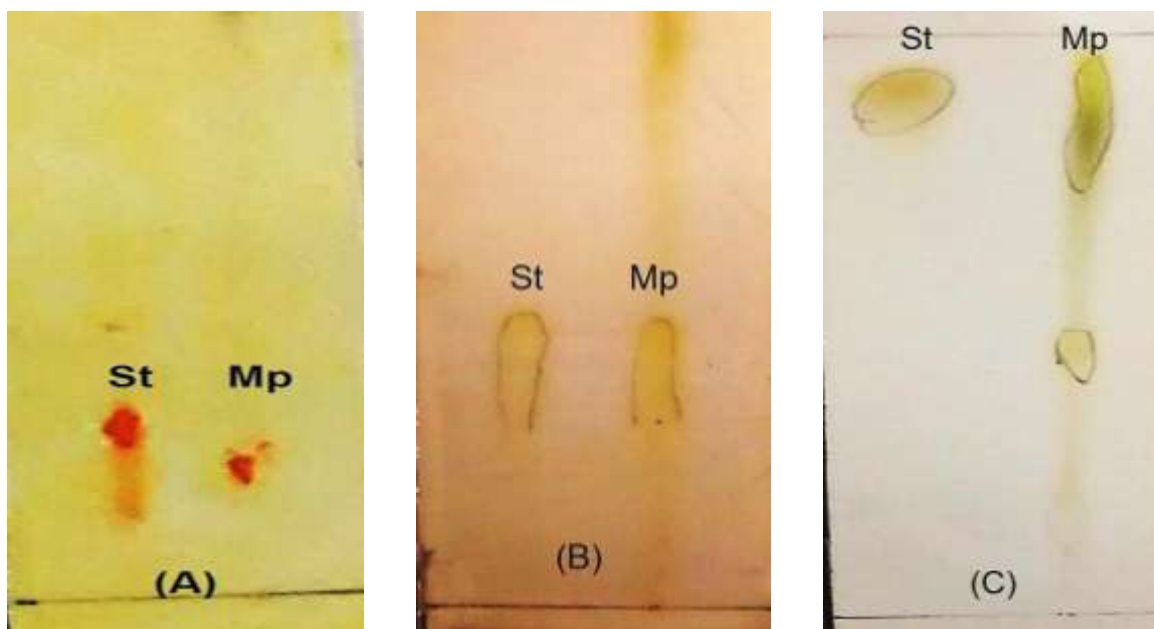


Figura 17. Cromatografía en capa fina. (A): atropina (St 0,25 y Mp 0,22). (B): rutina (St 0,46 y Mp 0,45). (C): quercetina (St 0,92 y Mp 0,90).

ANEXO 6



Figura 18. Efecto antidiarreico: sacrificio de los ratones por dislocación cervical, para proceder a extraer el estómago e intestino.

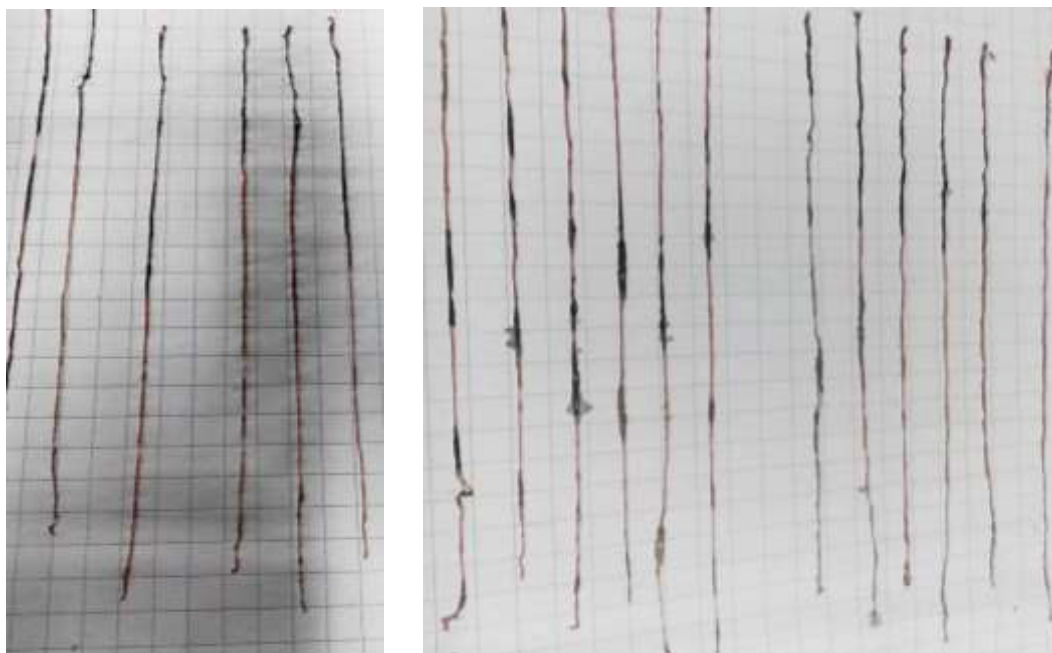


Figura 19. Determinación de efecto antidiarreico, mediante el desplazamiento del carbón activado, en el extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F a 400, 600 y 900 mg/kg.

ANEXO 7

Tabla 12. Desplazamiento del carbón activado por el movimiento peristáltico en ratones.

	N	Media (cm)	Desviación estándar	ANOVA	Prueba de Tukey					
					Control (suero fisiológico) 10 mL/Kg	Aceite ricino 10 mL/Kg	Aceite ricino + Loperamida 2 mg/Kg	Aceite ricino + Extracto 400 mg/Kg	Aceite ricino + Extracto 600 mg/Kg	Aceite ricino + Extracto 900 mg/Kg
Control (suero fisiológico) 10 mL/Kg	6	30,50	6,16	P=0,006		P=0,02*	P=0,04*	P=0,004*	P=0,04*	
Aceite ricino: 10 mL/Kg	6	17,17	3,76							
Aceite ricino + Loperamida 2 mg/Kg	6	18,33	4,59							
Aceite ricino + Extracto 400 mg/Kg	6	14,50	12,13							
Aceite ricino + Extracto 600 mg/Kg	6	18,50	5,54							
Aceite ricino + Extracto 900 mg/Kg	6	22,17	5,12							

*p<0,05 existe diferencias significativas

De la tabla se aprecia que la media del desplazamiento del carbón activado en el control (suero fisiológico) 10 mL/Kg es $30,50 \pm 6,16$; la media del desplazamiento del carbón activado en el aceite ricino 10 mL/Kg es $17,17 \pm 3,76$; la media del desplazamiento del carbón activado en el aceite ricino + Loperamida (fármaco estándar 2 mg/Kg) es $18,33 \pm 4,59$; la media del desplazamiento del carbón activado en el aceite ricino + Extracto 400 mg/Kg es $14,50 \pm 12,13$; la media del desplazamiento del carbón activado en el aceite ricino + Extracto 600 mg/Kg es $18,50 \pm 5,54$; la media del desplazamiento del carbón activado en el aceite ricino + Extracto 900 mg/Kg es $22,17 \pm 5,12$. Se encontró diferencias significativa con $p<0,05$ en las medias del desplazamiento del carbón activado entre los tratamientos del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F.

Tabla 13. Porcentaje de disminución del movimiento peristáltico en ratones.

	N	Media	Desviación estándar	ANOVA	Prueba de Tukey					
					Control (suero fisiológico) 10 mL/Kg	Aceite ricino: 10 mL/Kg	Aceite ricino + Loperamida 2 mg/Kg	Aceite ricino + Extracto 400 mg/Kg	Aceite ricino + Extracto 600 mg/Kg	Aceite ricino + Extracto 900 mg/Kg
Control (suero fisiológico) 10 mL/Kg	6	41,02	13,96	P=0,02		P=0,03*		P=0,02*		
Aceite ricino 10 mL/Kg	6	67,77	7,36							
Aceite ricino + Loperamida 2 mg/Kg	6	63,42	9,58							
Aceite ricino + Extracto 400 mg/Kg	6	69,66	25,67							
Aceite ricino + Extracto 600 mg/Kg	6	65,67	11,75							
Aceite ricino + Extracto 900 mg/Kg	6	58,15	10,59							

*p<0,05 existe diferencias significativas

De la tabla se aprecia que la media del porcentaje de disminución del control (suero fisiológico) 10 mL/Kg es $41,02 \pm 13,96$; la media del porcentaje de disminución en el aceite ricino 10 mL/Kg es $67,77 \pm 7,36$; la media del porcentaje de disminución en el aceite ricino + Loperamida (fármaco estándar) 2 mg/Kg es $63,42 \pm 9,58$; la media del porcentaje de disminución en aceite ricino + Extracto 400 mg/Kg es $69,66 \pm 25,67$; la media del porcentaje de disminución en el aceite ricino + Extracto 600 mg/Kg es $65,67 \pm 11,75$; la media del porcentaje de disminución en el aceite ricino + Extracto 900 mg/Kg es $58,15 \pm 10,59$. Se encontró diferencias significativas con $p<0,05$ en las medias del porcentaje de disminución entre los tratamientos del extracto etanólico de hojas de *Solanum radicans* L.F.

ANEXO 8

Formato para la determinación de la actividad biológica						
Método: bioensayo de citotoxicidad en <i>Artemia salina</i>						
Fecha :						
	Nº de sujetos de estudio	Agua de mar artificial (mL)	Solución Madre (extracto de planta: ----- mg/mL) (mL)	Suspensión de Levadura (1 gota)	Completar a volumen (5 mL)	Cantidades sobrevivientes (24 horas)
	1 ^{ro}	2 ^{do}	3 ^{ro}	4 ^{to}	5 ^{to}	6 ^{to}
Concentración 1: ----- ug/mL	A1					
	A2					
	A3					
Concentración 2: ----- ug/mL	B1					
	B2					
	B3					
Concentración 3: ----- ug/mL	C1					
	C2					
	C3					
Concentración 4: ----- ug/mL	D1					
	D2					
	D3					
Concentración 5: ----- ug/mL	E1					
	E2					
	E3					
Concentración 6: ----- ug/mL	F1					
	F2					
	F3					
Concentración 7: ----- ug/mL	G1					
	G2					
	G3					